

Strukturveränderungen anionischer Polysaccharide in Gegenwart mehrwertiger Kationen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades des

Doktors der Naturwissenschaften

- Dr. rer. nat. -

vorgelegt von

Anna-Maria Zellermann

geboren am 17. August 1983 in Hattingen

Fachbereich Chemie der Universität Duisburg-Essen

Institut für Physikalische Chemie

August 2012

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von März 2009 bis August 2012 im Fachgebiet der Physikalischen Chemie an der Universität Duisburg-Essen unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. C. Mayer angefertigt.

| | |
|--------------------------------------|-----------------------|
| Vorsitzender der Prüfungskommission: | Prof. Dr. M. Epple |
| Referent: | Prof. Dr. C. Mayer |
| Korreferent: | Prof. Dr. M. Ulbricht |

| | |
|-----------------------------|-----------------|
| Tag der mündlichen Prüfung: | 16. Januar 2013 |
|-----------------------------|-----------------|

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel „Strukturveränderungen anionischer Polysaccharide in Gegenwart mehrwertiger Kationen“ nur mit den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen verfasst und ohne fremde Hilfe angefertigt habe.

Unterschrift: _____

Gelsenkirchen, den 17. August 2012

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. C. Mayer für seine Hilfsbereitschaft und Unterstützung, die interessante Aufgabenstellung, seine ansteckende Begeisterung und seine fortwährende Diskussionsbereitschaft im Verlaufe dieser Arbeit.

Zudem möchte ich Herrn Prof. Dr. M. Ulbricht vom Institut für Technische Chemie für die Übernahme des Korreferates danken.

Des Weiteren danke ich Herrn Prof. Dr. M. Eppe für den Vorsitz der Prüfungskommission.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn M. Zähres für den unermüdlichen Einsatz bei NMR-Fragen und für seinen außergewöhnlichen Ideenreichtum in allen Bereichen.

Danken möchte ich auch Frau K. Schwark und Herrn U. Bachorski für ihre immerwährende Hilfsbereitschaft.

Ich möchte mich ebenso bei der Abteilung für Technische Chemie unter der Leitung von Prof. Dr. M. Ulbricht für die Bereitstellung der Gefriertrocknungsanlage bedanken.

Des Weiteren möchte ich Herrn Dr. D. Schunk und Frau J. Bauer danken, für zahlreiche mehr oder weniger fachliche Diskussionen, ihre Ratschläge und ihren Zuspruch.

Außerdem möchte ich meinen Dank an all meinen Kolleginnen, Kollegen, Bachelor- sowie Masterkandidaten und Vertiefungspraktikanten richten, sowohl für ihre Hilfsbereitschaft und ihren Einsatz als auch für das freundliche Arbeitsklima. Mein besonderer Dank gilt hier Herrn M. G. G. Nagel, der mich lange Zeit im Rahmen seiner Vertiefung sowie Bachelor- und Masterarbeit begleitet hat.

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden von ganzem Herzen für alles was sie tun, wie sie es tun und wie sie sind. Ich bin ein glücklicher Mensch Euch zu haben.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung und Aufgabenstellung | 1 |
| 2 | Theoretische Grundlagen..... | 4 |
| 2.1 | Extrazelluläre polymere Substanzen..... | 4 |
| 2.2 | Polysaccharide | 12 |
| 2.2.1 | Dextran | 20 |
| 2.2.2 | Hyaluronat..... | 21 |
| 2.2.3 | Alginat..... | 24 |
| 2.3 | Umweltbelastungen durch Schwermetalle und Schadstoffe | 30 |
| 3 | Methoden..... | 41 |
| 3.1 | Rasterkraftmikroskopie (AFM) | 41 |
| 3.2 | Konduktometrische Titration (CT) | 48 |
| 3.3 | Gelpermeationschromatographie (GPC)..... | 54 |
| 3.4 | Kernresonanzspektroskopie (NMR) | 63 |
| 3.5 | Kernresonanzspektroskopie mit gepulsten Feldgradienten (PFG-NMR) | 69 |
| 3.6 | Rotationsviskosimetrie (RV)..... | 73 |
| 4 | Praktische Durchführung..... | 79 |
| 4.1 | Aufreinigung der Polysaccharide..... | 79 |
| 4.2 | Probenpräparation zur Analyse mittels AFM | 80 |
| 4.3 | Probenpräparation zur Analyse mittels CT | 80 |
| 4.4 | Probenpräparation zur Analyse mittels GPC..... | 81 |
| 4.5 | Probenpräparation zur Analyse mittels PFG-NMR | 81 |
| 4.6 | Probenpräparation zur Analyse mittels RV..... | 82 |
| 4.7 | Verwendete Messgeräte und -parameter | 82 |
| 4.7.1 | Rasterkraftmikroskop (AFM)..... | 82 |
| 4.7.2 | Konduktometer (CT)..... | 83 |
| 4.7.3 | Gelpermeationschromatographische Anlage (GPC)..... | 84 |
| 4.7.4 | Kernresonanzspektrometer (NMR)..... | 85 |
| 4.7.5 | Rotationsviskosimeter (RV)..... | 86 |
| 4.7.6 | Weitere verwendete Geräte | 87 |
| 4.8 | Verwendete Chemikalien | 88 |
| 5 | Ergebnisse und Diskussion | 89 |
| 5.1 | Ergebnisse der rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen (AFM)..... | 89 |
| 5.1.1 | Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen an Dextran | 90 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 5.1.2 | Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen an Hyaluronat.. | 98 |
| 5.1.3 | Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen an Alginat..... | 106 |
| 5.2 | Ergebnisse der konduktometrischen Titrationsen (CT) | 113 |
| 5.2.1 | Konduktometrische Titrationsen an Alginat | 113 |
| 5.3 | Ergebnisse der gelpermeationschromatographischen Analysen (GPC) | 123 |
| 5.3.1 | Gelpermeationschromatographische Analysen an Dextran | 124 |
| 5.3.2 | Gelpermeationschromatographische Analysen an Hyaluronat.. | 125 |
| 5.3.3 | Gelpermeationschromatographische Analysen an Alginat..... | 127 |
| 5.4 | Ergebnisse der kernresonanzspektroskopischen Analysen (NMR/PFG-NMR)..... | 129 |
| 5.4.1 | Kernresonanzspektroskopische Analysen an Dextran..... | 129 |
| 5.4.2 | Kernresonanzspektroskopische Analysen an Hyaluronat..... | 137 |
| 5.4.3 | Kernresonanzspektroskopische Analysen an Alginat | 155 |
| 5.5 | Ergebnisse der rotationsviskosimetrischen Titrationsen (RV) | 164 |
| 5.5.1 | Rotationsviskosimetrische Titrationsen an Alginat..... | 164 |
| 6 | Zusammenfassung und Ausblick | 172 |
| 7 | Literaturverzeichnis..... | 176 |
| 8 | Anhang | 183 |
| | Abkürzungsverzeichnis..... | 236 |
| | Symbolverzeichnis | 238 |
| | Lebenslauf..... | 241 |

1 Einleitung und Aufgabenstellung

„Wasser ist die Voraussetzung allen Lebens. [...]

Wasser ist durch nichts zu ersetzen.“

(Wasser-Generationen-Vertrag, Deutsche Wasserwerke, 1994)^[1]

Dieses Wissen macht die Instandhaltung des Ökosystems Wasser, seine Aufreinigung und Reinhaltung zum bedeutenden Bestandteil des menschlichen Denkens und Handelns. Formuliert und hervorgehoben wurde der Stellenwert des Wassers in der 1967 vom Europarat verabschiedeten und am 6. Mai 1968 verkündeten Europäischen Wassercharta.^[1, 2] So lauten vier der dort aufgeführten zwölf Grundsätze zur Regelung der Wasserbewirtschaftung wie folgt:

- I. Ohne Wasser gibt es kein Leben, Wasser ist ein kostbares, für den Menschen unentbehrliches Gut. [...]
- III. Wasser verschmutzen heißt, den Menschen und allen Lebewesen Schaden zuzufügen. [...]
- V. Verwendetes Wasser ist den Gewässern in einem Zustand wieder zurückzuführen, der ihre weitere Nutzung für den öffentlichen, wie für den privaten Gebrauch nicht beeinträchtigt. [...]
- IX. Der Schutz des Wassers erfordert verstärkte wissenschaftliche Forschung, Ausbildung von Fachleuten und Aufklärung der Öffentlichkeit. [...]^[1]

Der Thematik des „sauberen“ Wassers unterstehen dabei verschiedene Aspekte, mit denen man sich weltweit auseinandersetzt. Einen dieser Gesichtspunkte bildet das Entfernen von Schwermetallkationen und anderen toxischen bzw. wassergefährdenden Substanzen im Zuge der (Ab-)Wasseraufbereitung.

Die Ursachen bzw. Quellen derartiger Verunreinigungen und die resultierenden Folgen sind hierbei vielseitig und weitreichend. Neben stark schwermetallhaltigen Industrieabwässern, die v. a. bei unsachgerechter Handhabung die Umwelt belasten können, führen auch Industrieunfälle und Naturkatastrophen zu einer Belastung von Grundwasser, Flüssen, Seen und Ozeanen (Beispiel: red sludge, Ungarn).^[3, 4, 5] In diesem Kontext ist ebenso der erhöhte Gehalt an Zink, Arsen, Kupfer, Kobalt, Cadmium und Uran in Gewässern im Umfeld von Gold- und Kupferminen in Südafrika zu nennen.^[6] Dieses Problem ist jedoch kein lokal begrenztes, da in nahezu allen von Bergbau und erzverarbeitenden Industriezweigen geprägten Regionen erhöhte Schwermetallkonzentrationen in Böden und Gewässern zu finden sind.^[7, 8, 9] Es existieren allerdings nicht nur vom Menschen verschuldete Schwermetallbelastungen. Zu diesen natürlichen Quellen zählt z. B. die hohe Arsenkonzentration in den Gewässern Bang-

ladeschs.^[3, 4]

Die Vielzahl an Schadstoffquellen sowie die mit Schwermetallen und anderen Giftstoffen verbundenen Risiken für Mensch und Umwelt machen deutlich, wie wichtig eine einfache, effektive, kostengünstige und umweltschonende Methode der Wasseraufbereitung zur Entfernung von Schwermetallen und Giftstoffen ist. Wünschenswert wäre hierbei eine bereits vorhandene, auf natürlichen Materialien beruhende Möglichkeit, welche flexibel an die Art und das Ausmaß des Problems angepasst werden kann. Selbiges gilt auch für andere, die Wasseraufbereitung einschließende Problemstellungen. So kommt biologischen Verfahren nicht nur auf Grund der mit ihnen einhergehenden verringerten Umweltbelastung durch Aufbereitungschemikalien bzw. deren Rückstände immer größere Bedeutung zu, sondern auch wegen ihres vergleichsweise geringen Energieverbrauchs.^[1, 10] Entsprechende Techniken finden bereits bei der Enteisung und Entmanganung von Wasser Verwendung, ebenso wie bei der Nitrat- und Ammoniumentfernung.^[1] Dennoch ist eine umfangreiche Nutzung von biologischen Vorgängen bei der Abwasserreinigung oft nur begrenzt möglich. Einer der Gründe hierfür ist die Tatsache, dass die Übertragung biologischer Vorgänge auf großtechnische Anlagen häufig problembelastet ist. Hinzu kommt die Notwendigkeit langer Einarbeitungsphasen, zurückzuführen auf eine Labilität der Prozesse, eine schwankende Ablaufqualität und begrenzte Nachregelungsoptionen.

Analoges gilt auch im Hinblick auf mögliche Methoden zur Entfernung von Metallkationen. Eine biologische Option und Alternative, beispielweise zum kostenintensiven Einsatz von Ionenaustauschern, bieten Polysaccharide, welche als Hauptbestandteil der extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) von Mikroorganismen in Biofilmen nahezu allgegenwärtig sind. Diese oftmals anionischen Polymere, wie Hyaluronsäure, Xanthan oder Alginat, zeigen die Fähigkeit mehrwertige Kationen, wie beispielsweise Blei-, Cadmium- oder Kupferionen in stabilen Komplexen binden zu können und sie auf diese Weise dem umgebenden System zu entziehen.^[11, 12, 13] In Form von Biofilmen ist dies mit dem Vorteil verbunden, dass sich eben diese durch eine gewisse Festigkeit und Oberflächenhaftung auszeichnen, wodurch sie sich selbst zur Anwendung in Reaktoren eignen, da sie den dort auftretenden Strömungen standhalten können.^[4]

Im Zusammenhang mit dem großtechnischen Einsatz dieser (Polymer-)Systeme steht das Interesse an der Untersuchung der Wechselwirkungen verschiedener Polysaccharide mit unterschiedlichen mehrwertigen Metallionen und den damit verbundenen Veränderungen im Gesamtsystem. Solche Änderungen sind von besonderer Bedeutung, da strukturmanipulierende Effekte einen Einfluss auf den gesamten, die Polysaccharide umgebenden Biofilm sowie dessen Anhaftungseigenschaften ausüben und den Einsatz des Systems zur Wasseraufbereitung einschränken oder fördern könnten.

Zur Untersuchung der Wechselwirkungserscheinungen finden im Rahmen dieser Arbeit unterschiedliche Messtechniken, wie die Kernresonanzspektroskopie auf Basis gepulster Feldgradienten oder die Rasterkraftmikroskopie, Verwendung. Da sich die Anbindung von Metallionen u. a. in Änderungen des Diffusionsverhaltens der Polymerketten in Wasser oder in ihrem Erscheinungsbild widerspiegeln sollten, sollte es möglich sein mit Hilfe dieser Methoden auftretende Strukturänderungen der analysierten Biomakromoleküle nachzuweisen und Abhängigkeiten von der vorliegenden Konzentration der multivalenten Kationen aufzuzeigen. Darüber hinausreichend sollen zwecks eingehender Analyse gelpermeationschromatographische Untersuchungsreihen, sowie konduktometrische und rotationsviskosimetrische Titrations durchgeführt werden.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Extrazelluläre polymere Substanzen

Die Mehrheit aller irdischen Mikroorganismen lebt in Aggregaten wie Biofilmen, Flocken oder Schlämmen, deren Matrix auf den von ihnen produzierten extrazellulären polymeren Substanzen, den sog. EPS, basiert.^[14, 15] Auf ihnen beruht der Zusammenhalt der mikrobiellen Aggregate und, falls vorhanden, deren Anhaftung an einer Oberfläche.^[16] Die Produktion dieser makromolekularen Aufbaumaterialien ist eine generelle Eigenschaft von Mikroorganismen. Sowohl prokaryotische Kleinstlebewesen, wie Bakterien und Archaeen, als auch eukaryotische Organismen, wie Algen und Pilze, sind zur Ausscheidung extrazellulärer polymerer Substanzen befähigt.^[14]

Die verschiedenen Mikroorganismen und ihre Aggregate weisen hierbei keine strikte Separation auf, oftmals kommt es zur Ausbildung stabiler Vereinigungen bzw. synergetischer Mikrokonsortien und -kolonien. Solche mikrobiellen Gemeinschaften findet man sowohl in Gewässern, als auch in Sedimenten oder Böden und sind maßgeblich an den dort stattfindenden Selbstreinigungsprozessen beteiligt.^[16]

Der Oberbegriff der EPS umfasst verschiedene Klassen von Makromolekülen, zu denen Kohlenhydrate in Form von Polysacchariden, Proteinen, Lipiden, Nukleinsäuren und andere Biopolymere gehören können.^[14, 17] Die Kettenlänge einzelner Komponenten und das damit verbundene Massenverhältnis der Bestandteile der extrazellulären polymeren Substanzen ist hierbei von zahlreichen Faktoren abhängig. Zu diesen gehören die Kultur, die Wachstumsphase, der Typ des Aggregats, die Umgebungsbedingungen und ebenso die Herkunft des betrachteten Systems.

Die mit der Wachstumsphase verbundenen Variationen des EPS-Gehalts werden z. B. an Hand der unterschiedlichen Entwicklungsstadien eines Biofilms, bei dem es sich um die älteste und verbreitetste Form der mikrobiellen Lebensgemeinschaft handelt, deutlich (Abbildung 1).^[15]

Die anfängliche Besiedlung findet in der Regel nicht auf dem bloßen Substrat sondern einem sog. conditioning film (auf der Basis organischer Makromoleküle) oder an bereits anhaftenden Primärbesiedlern statt und ist ein zunächst reversibler Vorgang (Abb. 1 a) und b)). Durch das Anwachsen des Biofilms treten infolge des zunehmenden EPS-Gehalts vermehrte Wechselwirkungen zur Substratoberfläche auf und es findet ein Übergang zur irreversiblen Adhäsion statt (Abb. 1 c)). In dem als Plateau-Phase bezeichneten Stadium herrscht ein Gleichgewicht zwischen dem Ablösen bzw. Verbrauch der EPS und ihrer Neubildung

(Abb. 1 d)). In Bezug auf den Verbrauch der extrazellulären polymeren Substanzen sollte ihre potentielle Funktion als bakterielle Kohlenstoff- und Energiequelle angeführt werden. So nutzen Bakterien die EPS anderer Mikroorganismen für ihre metabolische Aktivität; ein Selbstkonsum produzierter Substanzen findet in der Regel selten statt.^[17] Die in den unterschiedlichen Phasen ausgeschiedenen Biopolymere können hierbei voneinander differieren.^[18]

Der Abbau eines Biofilmsystems ist wiederum die Folge überwiegender Ablösungsprozesse. Hierbei kann es sowohl zum Ablösen einzelner Organismen (Erosion) oder aber auch zur Abtrennung ganzer Biofilmteile (sloughing) kommen (Abb. 1 e)), auch ein aktives Verlassen der Mikroorganismen ist ein potentieller Vorgang. Letztere Prozesse ermöglichen wiederum die Neubesiedlung anderer Gebiete (Abb. 1 f)).^[16]

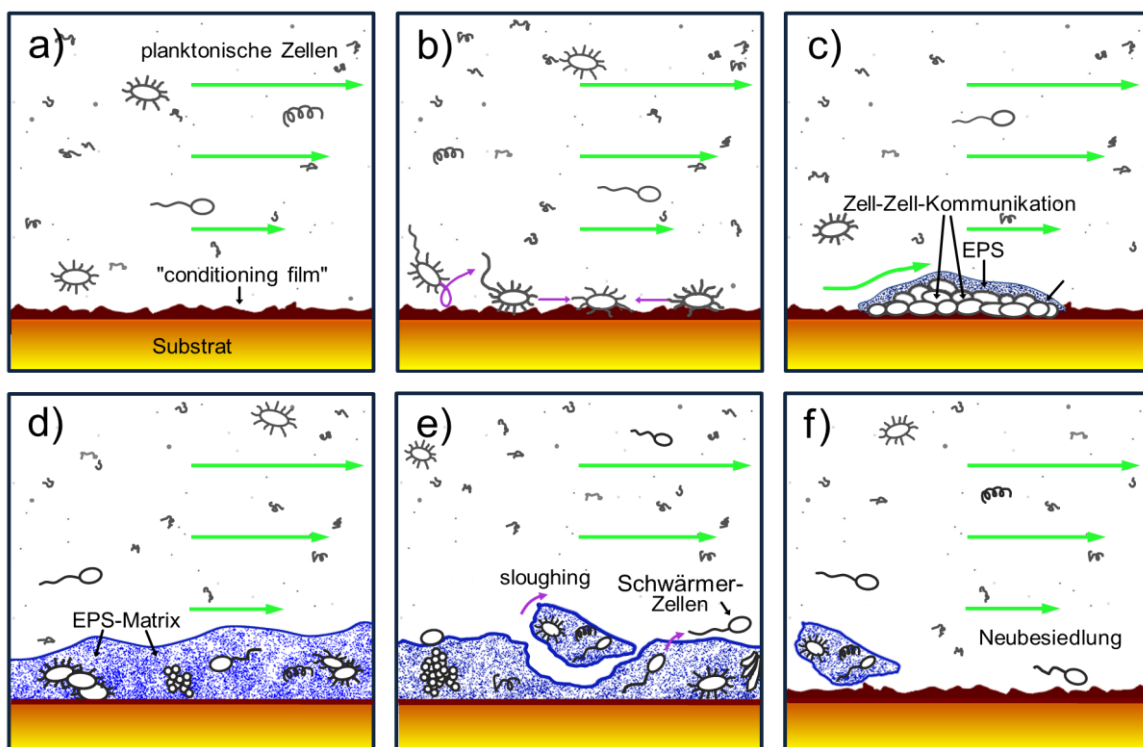


Abbildung 1: Schematische Darstellung der verschiedenen Entwicklungsphasen eines Biofilms in einem wässrigen System.^[nach 16]

Neben diesen Wachstumsprozessen erfolgt zudem eine dynamische Anpassung der Zusammensetzung der EPS-Matrix infolge von Änderungen im sie umgebenden Milieu.^[17] So wirken sich z. B. die Substratbeschaffenheit oder auch die zur Verfügung stehenden Nährstoff- und Sauerstoffmengen auf die vorliegende Polymerkomposition aus. Des Weiteren ist der Gehalt der einzelnen EPS-Bestandteile in Bezug auf die räumliche Verteilung innerhalb der Gesamtstruktur inhomogen, er variiert beispielsweise entlang der Biofilmtiefe.

In Bezug auf Biofilme findet man eine solche Heterogenität jedoch nicht nur bei der EPS-Verteilung.^[19] So ist beispielsweise die Verteilung der Mikroorganismen innerhalb eines Biofilms nicht einheitlich. Darüber hinaus gilt es in diesem Zusammenhang das Vorhandensein von Kanälen und Poren innerhalb des Biofilmsystems anzuführen. Deren Existenz wird bedingt durch den Bedarf der immobilisierten Mikroorganismen an bestimmten Substanzen, wie Nährstoffen oder unter Umständen auch Sauerstoff. Da allerdings auf Grund der gelähmten Matrix der konvektive Transport innerhalb des Aggregats eingeschränkt ist und Diffusionsprozesse nur langsam vonstattengehen, müssen die benötigten Stoffe auf anderem Wege zu den Organismen gelangen.^[14, 15] Die erwähnten Poren- und Kanalsysteme in der Architektur der EPS-Matrix ermöglichen dies bis zu einem gewissen Grad.^[19] Nichtsdestotrotz treten innerhalb eines Biofilms oftmals Gradienten auf, welche beispielsweise im Fall von Sauerstoff direkte Konsequenzen für die Lebensbedingungen der Mikroorganismen nach sich ziehen. So kommt es infolge der Tatsache, dass Sauerstoff von aeroben Organismen schneller verbraucht wird, als er nachdiffundieren kann, zum Auftreten anaeroben Zonen.^[16] Heterogenitäten finden sich ebenso in Bezug auf andere Stoffwechselprodukte aber auch im Hinblick auf den pH-Wert. Diese Aspekte bilden die Basis für die Nachbarschaft unterschiedlichster Organismen innerhalb eines Biofilms und das Vorhandensein synergetischer Gemeinschaften, wobei innerhalb von Mischpopulationen meist die Anzahl an Bakterien dominiert, aber je nach Standort auch große Anteile an Algen oder Pilzen zu finden sind.^[15, 16]

Trotz der erwähnten uneinheitlichen Zusammensetzung der extrazellulären polymeren Substanzen im Hinblick auf das Gesamtsystem stellen Polysaccharide mit einem Anteil von bis zu 90% der Trockenmasse jedoch stets die Hauptkomponente dar, weshalb es sich bei ihnen auch um den am besten untersuchten EPS-Bestandteil handelt.^[11, 20, 21]

In Bezug auf die EPS-Zusammensetzung gilt es zu erwähnen, dass die einzelnen Stoffe zwecks der Analyse ihrer Anteile zunächst extrahiert werden müssen, so dass sowohl die Extraktionsmethode als auch das jeweilige analytische Verfahren einen Einfluss auf das Ergebnis ausüben kann. So kann es durch die Extraktionsvorgänge zu einer Zerstörung der EPS-Struktur und der in ihr eingebetteten, immobilisierten mikrobiellen Zellen kommen, wodurch beispielsweise eine auftretende Zelllyse die Ergebnisse in gewissem Ausmaß verfälschen kann.^[17]

Neben der Unterteilung der einzelnen Bestandteile der extrazellulären polymeren Substanzen auf der Basis ihrer Zugehörigkeit zu unterschiedlichen Stoffklassen kann des Weiteren auch eine Separation der EPS gemäß ihrer Lokalisation und/oder ihrer Rolle im mikrobiellen Metabolismus erfolgen. Dieser Grundidee Folge leistend unterscheidet man zwischen löslichen und gebundenen Formen der EPS.^[22] Während der gebundene Anteil direkt an den Zellen anhaftet, werden unter dem Begriff der löslichen Substanzen schwach gebundene

oder in Lösung befindliche Makromoleküle zusammengefasst. Dieser Unterteilung entsprechend findet man zwischen den löslichen EPS und den Zellen nur relativ geringe Wechselwirkungen. Dennoch üben die zugehörigen Biopolymere einen starken Einfluss auf die mikrobielle Aktivität sowie die Oberflächeneigenschaften des Gesamtaggregats aus.^[17] Bei den gebundenen extrazellulären polymeren Substanzen wird zudem einem Zweischichtmodell zufolge zwischen den sog. tightly bound (TB) und loosely bound (LB) EPS unterschieden (Abbildung 2).^[23]

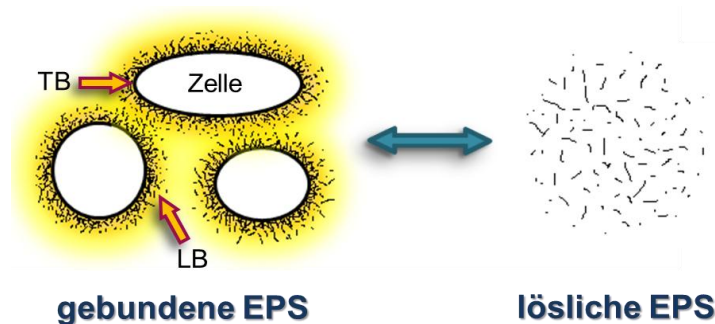


Abbildung 2: Schematische Darstellung der EPS-Struktur.^[nach 23]

Ebenso vielfältig wie ihre Bestandteile sind auch die weitreichenden Aufgaben der EPS. Die auf diesen Verbindungen basierenden adhäsiven und kohäsiven Wechselwirkungen sind verantwortlich für den Zusammenhalt und das Anhaftungsvermögen von mikrobiellen Aggregaten.^[24] Die Grundlage von Ad- und Kohäsion bilden schwache physikochemische Wechselwirkungen, zu denen elektrostatische Kräfte, Wasserstoffbrückenbindungen und London-Dispersionskräfte gehören.^[25] Durch die Anhaftung an Materialoberflächen kommt es zu Änderungen der Substrateigenschaften, welche wiederum die anfänglichen Adhäsionsprozesse der Kleinstlebewesen bei der Besiedlung beeinflussen. Des Weiteren füllen die extrazellulären Polymere den Raum zwischen den Zellen bzw. Organismen aus, umhüllen und schützen diese und bestimmen so die Struktur und Morphologie der dreidimensionalen Matrix. Die ihnen eigenen Charakteristika, zu denen u. a. ihre Adsorptionsfähigkeit, ihre Bioabbaubarkeit oder auch ihre Hydrophilie bzw. -phobie zählen, machen sie zur Schlüsselkomponente der zugehörigen mikrobiellen Gefüge und bestimmen deren physikalische, chemische und biologische Eigenschaften. Hierzu gehören Aspekte wie die Struktur, Oberflächencharakteristika (wie hydrophile und hydrophobe Eigenschaften oder die Oberflächenladung), Flockung, Siedlungs- und Entwässerungseigenschaften, das Adsorptionsvermögen, sowie die Stabilität der mikrobiellen Systeme.^[17]

Auf Grund des hohen Wasserbindungsvermögens der oftmals geladenen Biopolymere enthalten die gelartigen Biofilme, Schlämme oder Flocken einen enorm hohen Wasseranteil von bis zu 95%.^[11, 14] Dieser Feuchtigkeitsgehalt dient dem Schutz der Mikroorganismen vor Aus-

trocknung, er führt aber auch dazu, dass ein Großteil der potentiellen Bindungspunkte der Makromoleküle abgeschirmt ist. Ein unter Umständen zellschädigender Wasserverlust der Aggregate kann dementsprechend sowohl in einer vermehrten Wechselwirkung der Polymere untereinander, als auch in einer stärkeren Adhäsion zum Substrat resultieren.^[24]

Als nachteilig erweist sich das große Hydratisierungsvermögen der EPS respektive der mikrobiellen Aggregate in der Wasseraufbereitung und dem daraus hervorgehenden Klärschlamm. Dieser führt auf Grund seines hohen Wasseranteils zu entsprechenden Entsorgungsproblemen, welchen generell mittels Druckfiltration zur Entwässerung entgegengewirkt wird.^[15, 17]

Positiv wirken sich das hohe Wasserbindungsvermögen und die Schutzfunktion des EPS-Gefüges hingegen auf die darin eingebetteten Mikroben aus. Die mit der Einbettung einhergehende Protektion der Organismen ermöglicht diesen ein Überleben selbst unter Extrembedingungen. So findet man mikrobielle Aggregate in scheinbar lebensfeindlichen Biotopen, wie heißen Quellen, sauren Seen oder sogar Wüsten.^[16] In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage nach dem möglichen Fortbestehen solcher mikrobieller Lebensformen außerhalb der Erde. So existieren Theorien bezüglich des möglichen Selbsterhalts biofilmbildender Mikroorganismen auf dem Mars auf der Basis des Zellschutzes durch einen ausreichend hohen Wassergehalt der umgebenden Matrix.

Neben dem hohen Bindungsvermögen der dreidimensionalen Polymerstruktur gegenüber Wasser weist diese (auch auf Grund der Heterogenität entlang der Tiefe der Matrix) eine gesteigerte Sorptionsfähigkeit gegenüber organischen Substanzen auf. Das Adsorbieren organischer Moleküle, wie beispielsweise Phenanthren oder Benzol, kann als Anzeichen für das Vorhandensein hydrophober Bereiche innerhalb der EPS-Matrix gedeutet werden.^[26] Diese Aufnahmefähigkeit kann zu einer Ansammlung von organischer Verunreinigungen führen, ein Vorgang der in einer Belastung der Aggregate und ihrer Umgebung resultieren kann. Besonders nachteilig erweist sich ein solches Sorptionsvermögen, wenn die zugehörigen mikrobiellen Aggregate in die Nahrungskette gelangen. Dieses Charakteristikum kann aber ebenso von Nutzen sein, wenn Mikrokonsortien beispielsweise im Zuge der Wasseraufbereitung gezielten Einsatz finden. Selbiges gilt für die Wechselwirkungen mit Schwermetallionen. So ist eine weitere Funktion der extrazellulären polymeren Substanzen der Schutz des Gesamtsystems gegenüber toxischen Substanzen wie Bioziden oder auch Schwermetallen.^[14, 24] Es können beispielsweise Metallionen, wie Kupfer- oder Eisenkationen von den oftmals anionischen Polysacchariden gebunden werden, da ihre Polymerstrukturen von zahlreichen Carboxyl- und Hydroxylgruppen geprägt sind, welche sie zu eben diesem Prozess befähigen.^[17, 24] Des Weiteren wird vermutet, dass lösliche EPS eventuell ein größeres Bindungs- bzw. Sorptionsvermögen gegenüber Schwermetallen aufzeigen als gebundene.^[22]

Dieses potentielle Bindungsvermögen für Metallionen erweist sich ebenfalls als nützlich bei der Verwendung mikrobieller Filme, Schlämme und Flocken in Bioreaktoren zur Abwasseraufbereitung. So ist die Anbindung divalenter Kationen, wie Calcium- und Magnesiumkationen, eine der Hauptwechselwirkungen in mikrobiellen Aggregaten.^[25] Auf Grund der Stärke der Bindungen zu Schwermetallen kommt es allerdings bei der Adsorption selbiger an aktivierten Schlämmen etc. zu einer simultanen Abgabe von Ca^{2+} - bzw. Mg^{2+} -Ionen, ein Prozess, welcher als Anzeichen für einen Ionenaustauschmechanismus betrachtet werden kann.^[17] Doch der Einsatz von aktivierten Schlämmen und anderen mikrobiellen Aggregaten zur Abwasseraufbereitung ist nur eines der potentiellen Einsatzgebiete in denen hohe Schwermetallkonzentrationen und ihre Beseitigung eine Rolle spielen (siehe Abschnitt 2.3).

Nachteilig hingegen erweist sich dieses Aufnahmeverhalten gegenüber Metallionen im Zusammenhang mit technischen Systemen wie Filtern, porösen Materialien, Wärmetauschern, Separationsmembranen, Rohrleitungssystemen und anderen von Mikroorganismen besiedelbaren Oberflächen. Hier sind die extrazellulären polymeren Substanzen in den Prozess der mikrobiell beeinflussten Korrosion (microbiologically influenced corrosion, MIC) involviert. Die zugehörigen Vorgänge basieren auf dem Binden von Metallionen durch chemische Reaktionen, Chelatisierung oder Ionenbindung und führen letztendlich zu einem Auflösen des Metalls.^[24]



Abbildung 3: Beispiele für mikrobiell beeinflusste Korrosion.^[27]

Im Zusammenhang mit der Anwesenheit von Metallen zeigt sich erneut die Adaptation der Komposition von mikrobiellen Aggregaten. Diese reagieren auf eine Erhöhung der Schwermetallionenkonzentration bzw. der Konzentration toxischer Substanzen mit einer gesteigerten EPS-Produktion zum Zwecke des Eigenschutzes.^[28, 29, 30] Es muss allerdings auch erwähnt werden, dass dieser Effekt, falls der Gehalt der toxischen Stoffe einen gewissen kritischen Wert überschreitet, weniger signifikant ist.^[31] Auch eine Inhibierung der Biopolymerausscheidung ist unter Umständen möglich.^[17]

Betrachtet man einen oberflächenhaftenden Biofilm und dessen dynamische Zusammensetzung, so gilt Analoges im Fall starker, auf das System wirkender Scherkräfte. Hierbei ergibt sich aus einem Anstieg der Scherrate eine Zunahme des EPS-Gehalts auf Grund stimulierter Polymerproduktion. Dies wirkt dem partiellen oder vollständigen Ablösen des Aggregats entgegen. Die vermehrte Generierung polymerer Substanzen ist allerdings lediglich temporär, das Maß der produzierten EPS-Menge kehrt im Falle langfristiger Belastung zu einer dem Ausgangswert ähnelnden Quantität zurück.^[17] Dies sind nur einige der Aspekte, die zu der enormen Stabilität der mikrobiellen Gefüge beitragen, welche sie dazu befähigen pH-Extremen, hohen Salzkonzentrationen, mechanischer Belastung oder ähnlichem standzuhalten.^[16]

So sorgt die große Vielfalt der Biopolymere für einen gewissen Schutz vor Enzymen, da diese oft molekülspezifisch sind.^[14] In der Mannigfaltigkeit der EPS und in der hohen mechanischen Stabilität ihrer Strukturen liegt somit ebenfalls ein Problem begründet. Beide Faktoren erschweren erheblich das Entfernen bzw. Abtöten unerwünschter Biofilme oder anderer Aggregate, da beispielsweise die große Vielfältigkeit der Makromoleküle deutlich macht, dass ein einzelner Reinigungsschritt meist nicht ausreichend sein kann, um alle Arten an Konsortien zu eliminieren. Mechanische Reinigungsschritte, mit denen diese Problematik zumindest teilweise umgangen werden könnte, sind oftmals wegen der schweren Zugänglichkeit (wie z. B. in Rohrleitungen) nicht möglich. Aus diesem Grund sind häufig aufwendige, mehrschrittige oder aggressive Prozeduren notwendig. Dies kann in ungünstigen Fällen Unterbrechungen von sonst kontinuierlich ablaufenden Prozessen nach sich ziehen und zusätzliche Kosten verursachen. Denn neben dem bereits erwähnten Phänomen der Biokorrosion können auch das sog. Biofouling und die Bioverwitterung zu erheblichen Schäden führen. So leisten mikrobielle Aggregate unter anderem auf Grund der Komplexierungseigenschaften ihrer EPS einen Beitrag zum Ab- bzw. Auflösen von Mineralien.^[24] Selbiges gilt für die von ihnen exkrementierten Stoffwechselprodukte, wie z. B. organische und anorganische Säuren, welche auftretende (physikalische, chemische und biologische) Verwitterungsprozesse beschleunigen können.^[16, 32] Dies gilt sowohl für den Abbau natürlichen Gesteins als auch für künstliche Baustoffe. Auf diese Weise können Werkstoffe, wie Beton, Keramik, Glas, Kunst- oder Naturstein, von verschiedensten Mikroorganismen bewachsen und beeinflusst werden, wobei neben der Werkstoffoberfläche auch gegebenenfalls vorhandene Porensysteme besiedelt werden können.^[32] Die auftretenden Schäden und damit verbundenen Instandsetzungskosten betreffen Betonoberflächen in Abwasseranlagen ebenso wie kulturell bedeutungsvolle Bauwerke wie den Kölner Dom (Abbildung 4).

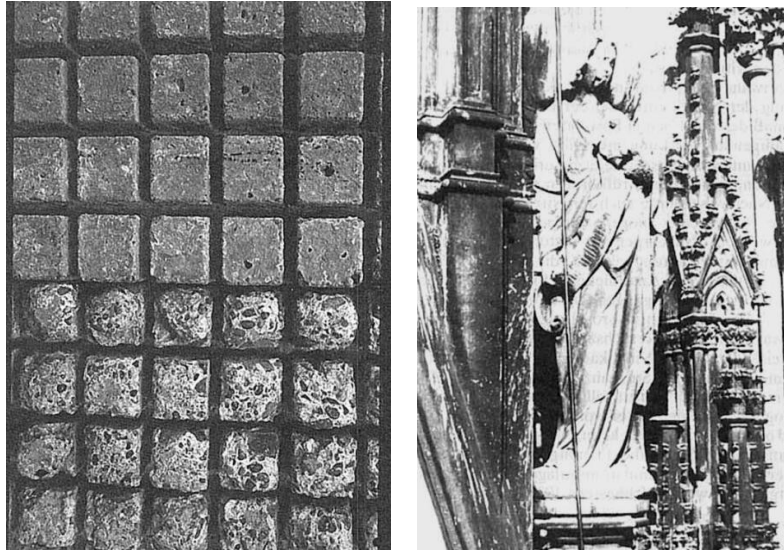


Abbildung 4: Betonprüfkörper mit gutem und schlechtem Widerstand gegen biogene Schwefelsäurekorrosion (links) und verwitterte Sandsteinskulptur am Kölner Dom mit äußerlich sichtbarem biologischem Bewuchs (rechts).^[32]

Im Fall des Biofoulings sind extrazelluläre polymere Substanzen u. a. verantwortlich für steigende Reibungswiderstände auf Grund der viskoelastischen Eigenschaften der EPS-Matrix (beispielsweise bei Schiffsrümpfen und Rohrleitungen) oder aber auch für ungewollte Änderungen der Oberflächeneigenschaften, wie Hydrophobizität, Wärmeleitfähigkeit, Rauheit oder Farbe, aus denen der Wunsch einer vollständigen Aggregatentfernung resultiert.^[24] Des Weiteren ersucht man die Eliminierung von Biofilmen im medizinischen bzw. hygienischen Bereich, da sie beispielsweise als Infektionsquelle auf den Oberflächen von Implantaten, Kathetern oder auch Kontaktlinsen zu finden sind. In diesem Zusammenhang zeigt sich vor allem die Schutzfunktion der Mikroorganismen bzw. ihrer EPS gegenüber diversen Antibiotika, Desinfektionsmitteln und der Immunabwehr.^[16, 24]

Nichts desto weniger sind extrazelluläre polymere Substanzen von hohem biotechnologischen Potential. Ein besonders paradox erscheinendes Einsatzgebiet bilden hierbei Kontaktlinsen. Während unerwünschte Biofilme auf den meist als optisches Hilfsmittel dienenden Haftsclenen zu Infektionen führen können, erfüllen polysaccharidbeschichtete Kontaktlinsen den Zweck den Tragekomfort selbiger zu erhöhen und durch ihre Wasserspeicherfähigkeit das Problem „trockener Augen“ zu reduzieren.^[33, 34] Des Weiteren finden extrazelluläre polymere Substanzen beispielsweise auf Grund ihres Beitrags zur Viskositätssteigerung Verwendung in der Nahrungsmittelindustrie sowie in Farben und vielen weiteren technischen Materialien. Die EPS führen zu Änderungen der rheologischen Eigenschaften des sie umgebenden Fluids und modifizieren somit die Textur der resultierenden Stoffe. Ihre Hydratisierungseigenschaften machen sie zu einer nützlichen Komponente bei der Fertigung von Pharma-

zeutika und Kosmetika, bei welchen sie der Feuchtigkeitzufuhr dienen. Auch das Potential der zugehörigen Makromoleküle bei medizinischen Anwendungen oder als biologischer Kleber wird in Fachkreisen diskutiert.^[24]

Nicht außer Acht gelassen werden sollte vor allem der bereits erwähnte Einsatz von Mikroorganismen und ihrer EPS in biologischen Abwasseraufbereitungsreaktoren zur Entfernung toxischer Substanzen. Hierbei gilt es zu erwähnen, dass bei solchen Prozessen, analog zu natürlichen Selbstreinigungsprozessen von Gewässern, jeder Komponente des mikrobiellen Aggregats ein eigenständiger Effekt zuzuordnen ist. Aus diesem Grund ist der Gesamteffekt schwer abzuschätzen und fallabhängig, so dass eine Manipulation der Mikroorganismen und ihrer Aggregate zwecks einer effektiveren biologischen Wasseraufbereitung problembehaftet ist. Hieraus wird deutlich, dass es zu diesem Zeitpunkt noch zahlreicher Studien, z. B. in Bezug auf die Stabilität und Oberflächenanhaftung der verwendeten Biofilme, bedarf, um die Wasserreinigung auf der Basis von Mikroorganismen besser kontrollieren zu können.

Das Hauptaugenmerk der (biotechnologischen) Forschung liegt derzeit auf der Komponente mit dem größten Anteil an den extrazellulären polymeren Substanzen, den Polysacchariden (PS). Auf Grund ihres hohen Beitrags zur EPS-Matrix, sei er funktions- oder mengenmäßiger Natur, aber auch auf Grund ihrer guten Zugänglichkeit und erhältlichen Reinheit, sollen in dieser Arbeit unterschiedliche Polysaccharide als Modellsystem für die entsprechenden mikrobiellen Aggregate dienen. Auf die Charakteristika und Einsatzmöglichkeiten dieser speziellen Polymerspezies soll im Folgenden näher eingegangen werden.

2.2 Polysaccharide

Die Stoffklasse der Polysaccharide, welche auch als Glykane, Polyosen, Mehr- oder Vielfachzucker bezeichnet werden, ist dem Oberbegriff der Kohlenhydrate zuzuordnen.^[35] Es handelt sich hierbei um Kondensationspolymere großer Molmasse, deren Wert häufig über 1000000 g/mol liegt.^[36] Die Strukturen der Makromoleküle können sowohl neutral als auch geladener Natur sein; letztere werden als Polyelektrolyte bezeichnet.^[15] Die Herkunft der Vielfachzucker kann unterschiedlichster Art sein. Neben den bereits genannten mikrobiellen Polysacchariden können diese auch pflanzlichen oder tierischen Ursprungs sein. Hierbei unterscheiden sich die Polyosen aus höheren Landpflanzen von denen aus Algen oder Pilzen bedingt durch unterschiedliche Lebensweisen. So sind die Lebensbedingungen von Algen durch das sie umgebende wässrige Milieu geprägt, welches mit einer unterschiedlich starken mechanischen Beanspruchung etc. einhergeht.^[37] Tierische Glykane sind zumeist

charakteristisch in ihrer Art und limitiert in ihrem Vorkommen, wohingegen von Mikroorganismen produzierte Polysaccharide eine große Vielfalt und nahezu unbegrenzte Variation struktureller Aspekte aufweisen.

Der Aufbau eines solchen Polysaccharids basiert dabei auf zehn oder mehr glykosidisch verknüpften Monosaccharidbausteinen.^[36] Im Falle einer geringeren Zahl an Monomereinheiten spricht man demgemäß von Di-, Tri-, Tetra-, Penta- bzw. Oligosacchariden.^[35] Abbildung 5 zeigt einige ausgewählte Beispiele von Monomereinheiten, die am Polysaccharidaufbau beteiligt sein können.

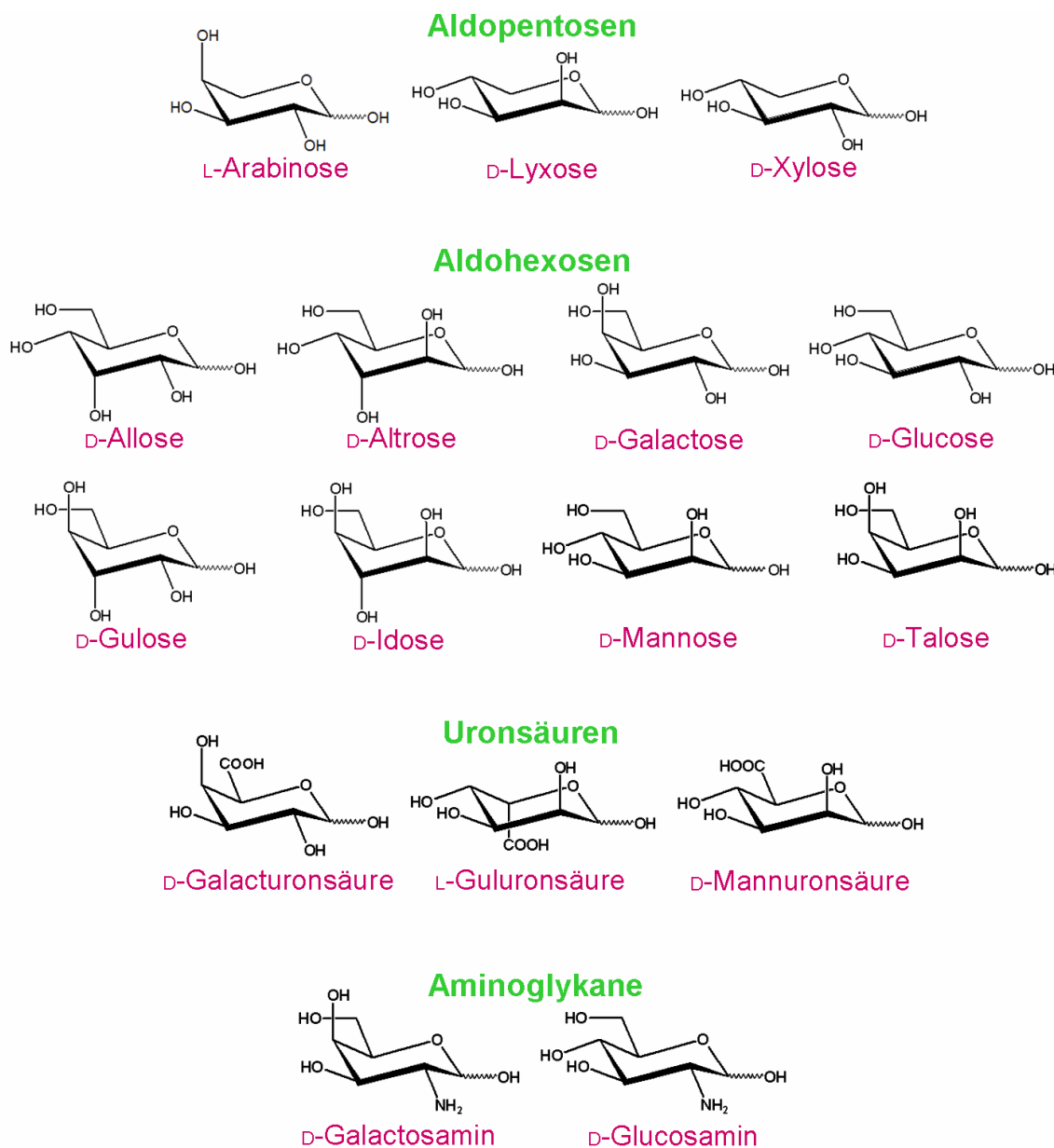


Abbildung 5: Auswahl möglicher Monosaccharideinheiten.^[nach 36, 38]

Die untergeordneten, neutralen oder geladenen Zuckereinheiten im jeweiligen Glykan können hierbei sowohl einheitlich sein, als auch in ihrer Art variieren.^[13] Falls nur eine Monosaccharidgattung zum Gesamtaufbau beiträgt, spricht man von sogenannten Homopolysacchariden. Bei Heteropolysacchariden hingegen basiert die Molekülstruktur auf mindestens zwei verschiedenen Monosaccharidtypen. Neben dieser Differenzierung gilt es allerdings ebenso die große Varianz an denkbaren Untereinheiten und die Vielzahl an möglichen unterschiedlichen Verknüpfungen (Bindungen über C1 bis C6, α - und β -Konfiguration usw.) zu berücksichtigen.^[35] Hierzu sind in Abbildung 6 einige Aspekte der Nomenklatur entsprechender Zuckerbausteine dargestellt.

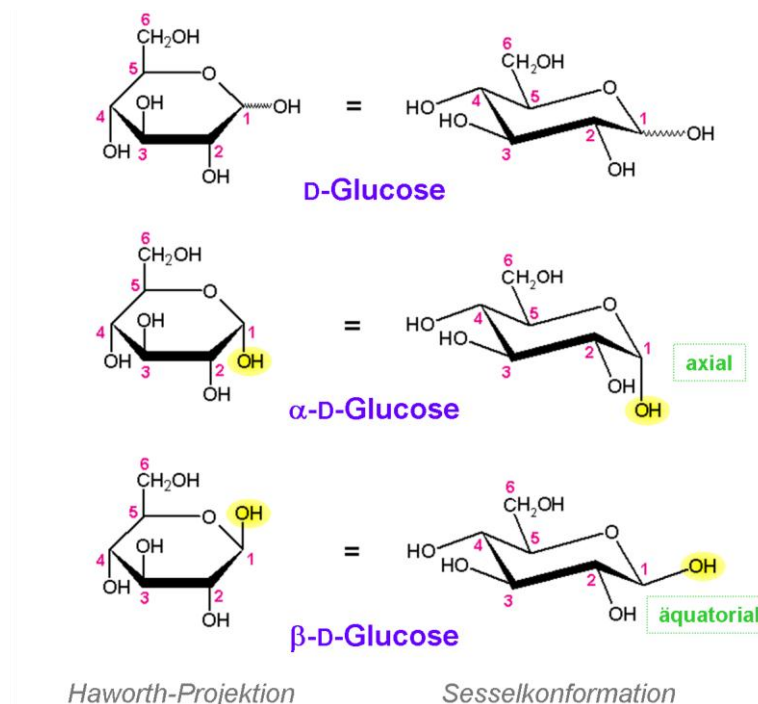


Abbildung 6: Nomenklatur von Monosacchariden auf Grund von Konfiguration und Konformation.^[nach 38, 39]

Demzufolge handelt es sich bei dem einfachsten erdenklichen Homopolysaccharid um ein lineares Makromolekül mit einheitlicher Verknüpfungsart und ohne jegliche Verzweigungen. Ein Beispiel hierfür bildet das am häufigsten vertretene Polysaccharid der Erde, die Cellulose (Abbildung 7). Als Hauptbestandteil der pflanzlichen Substanz dient sie der Strukturbildung bzw. -stabilisierung; die organische Verbindung ist aber auch in den Substanzen von Bakterien, Pilzen, Algen und sogar in Tieren auffindbar.^[40]

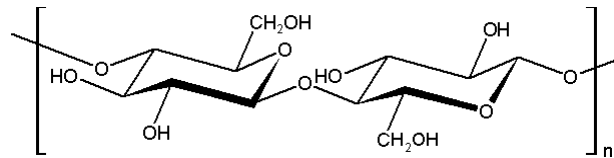


Abbildung 7: Chemische Struktur von Cellulose.^[nach 40]

Mit zunehmendem Verzweigungsgrad und dem Vorhandensein mehrerer Verknüpfungsarten/-stellen steigt entsprechend die Komplexität der zugehörigen Makromolekülstrukturen. So kann es auf Grund der unterschiedlichen Verzweigungen zum Auftreten von kamm- oder baumähnlichen Strukturen kommen (Abbildung 8).^[36]

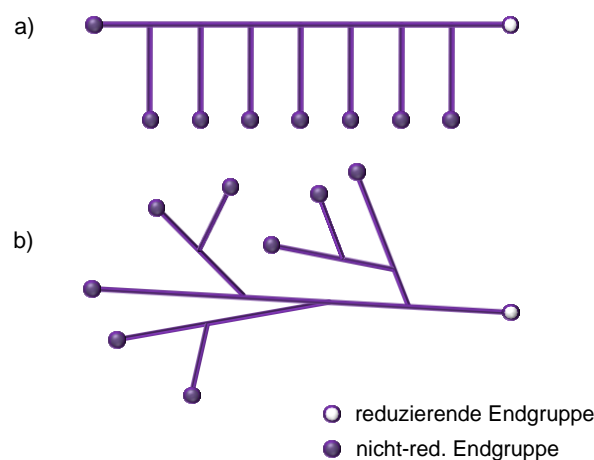


Abbildung 8: Schematische Darstellung unterschiedlicher Polysaccharid-Verzweigungstypen, a) kammähnlich, b) baumähnlich.^[nach 36]

Das einfachste denkbare Heteropolysaccharid basiert auf lediglich zwei Zuckerarten. Hierbei besteht einerseits die Möglichkeit, dass sich beide in der Hauptkette befinden, sei es nun alternierend, entsprechend einer definierten Reihenfolge oder statistisch verteilt. Andererseits ist es möglich, dass ein Saccharidtyp ausschließlich zum Aufbau der Hauptkette dient, während der zweite in den Seitenketten wiedergefunden werden kann. Des Weiteren sind die meisten Polyosen polymolekular, was bedeutet, dass sie Moleküle enthalten, die zwar generell die gleichen strukturellen Charakteristika aufweisen, deren Molmassen aber nicht einheitlich sind, sondern eine gewissen Verteilungsbreite aufzeigen.^[36] Auch Variationen im detaillierten Molekülaufbau können auftreten.

Die mit komplexesten Biopolymere dieser Gattung sind bakteriellen Ursprungs; so beinhalten ihre Wiederholungseinheiten z. T. bis zu acht unterschiedliche Zuckerbausteine mit oftmals unterschiedlichen Verknüpfungsgeometrien.^[41, 42]

Hierbei gilt es zu erwähnen, dass die Art der glykosidischen Bindung, ebenso wie das Vorhandensein möglicher funktioneller Gruppen und Substituenten, einen Einfluss auf die Mole-

külbeweglichkeit ausübt. Axiale Verknüpfungen zeigen sich steifer als äquatoriale und führen so ebenso zu einer verringerten Polysaccharidbeweglichkeit wie große sterische Gruppen in äquatorialer Position. Substituenten am Monosaccharidgrundkörper wirken sich zudem auf die Glykankonformation aus. So sinkt bei helixbildenden Polysacchariden die Ausbildung derartiger Überstrukturen mit steigender Substitution.^[15] Nicht zuletzt beeinflussen funktionelle Gruppen, wie Carboxylgruppen von Uronsäuren oder Substituenten, wie Acetylgruppen, die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Polyosen, wie beispielsweise den Hydratisierungsgrad oder das Anbindungsvermögen gegenüber anorganischen Ionen.^[16, 42]

In diesem Zusammenhang wird das Interesse am strukturellen Aufbau von Polysacchariden, ihren Charakteristika und eventuelle Vorhersagen im Hinblick auf ihre Eigenschaften deutlich. Als eine der wichtigsten und effektivsten Methoden zur Strukturanalyse, zur Untersuchung der molekularen Dynamik sowie der Bindungseigenschaften dieser Polymergattung findet die Kernresonanzspektroskopie Verwendung. Mit Hilfe dieser Messtechnik können zudem Informationen über die intra- und intermolekulare Umgebung jedes Atoms gewonnen oder auch Abstände verschiedener Polysaccharidsequenzen berechnet werden (vgl. Abschnitt 2.2.3, Abb. 20).^[43] Weitere interessante Aspekte bilden u. a. die (durchschnittliche) Molmasse eines Polysaccharids, bzw. seine Molmassenverteilung und eine damit verbundene Polydispersität, Gesichtspunkte, deren Analyse beispielsweise auf der Basis der sog. Gelpermeationschromatographie Folge geleistet werden kann.^[36]

Aus den zahlreichen struktur- und eigenschaftsbestimmenden Faktoren resultiert eine Palette komplexer Biopolymere, welche mit einer entsprechenden Funktionsvielfalt einhergeht.^[35] So kommt Polyosen in tierischen Organismen eine energieliefernde Rolle zu; pflanzliche und mikrobielle Polysaccharide dienen in der Natur als Gerüst- und Speichersubstanzen.^[37] Hieraus folgend findet man Glykane als skelettale Substanz in den Zellwänden höherer Landpflanzen und Algen. Bei Mikroorganismen und Tieren kommt ihnen unter anderem auch die Aufgabe als Nährstoffreserve zu. Zudem können Polyosen ebenso als Einkapselungssubstanz für Mikroben fungieren.^[36] Auch die zuvor erwähnten protektiven Eigenschaften dieser speziellen Kohlenhydrate und ihre damit verbundene Rolle in der Struktur mikrobieller Aggregate tragen zur Funktionsvielfalt bei. Hierzu zählt ebenso die aus dem Quellungsvermögen der Polysaccharide resultierende Wasseranbindung und Speicherkapazität, welche der Austrocknung der Aggregate entgegenwirkt und auf diese Weise zum Schutz der eingebetteten Organismen beiträgt.^[37] Das Schutzbedürfnis von Mikroorganismen wie Bakterien im Vergleich zu höheren Zellen liegt darin begründet, dass sie in oft feindlicher Umgebung überleben müssen. Einen solchen Lebensraum stellen beispielsweise Mensch und Tier dar, typische bakterielle Wirte, die über zahlreiche Abwehrmechanismen verfügen. Diesen Mecha-

nismen entgegen wirkend besitzen auch die Mikroorganismen Schutzsysteme, an denen meist Polysaccharide beteiligt sind.^[44]

Von wirtschaftlicher Bedeutung allerdings sind meist Polysaccharide aus höheren Landpflanzen (wie Cellulose, Pektin oder Stärke) z. T. aber auch Glykane aus Algen und Pilzen.^[37] Letztere sind auf Grund ihrer spezifischen physikalisch-chemischen Eigenschaften vor allem in den Bereichen der Chemie, Pharmazie und Lebensmittelchemie von Bedeutung. Als Applikationsbeispiel für das pflanzliche Polysaccharid Cellulose kann die direkte Nutzung in Form von Baumwoll-, Jute- und Flachsfasern angeführt werden, ebenso wie ihre Verwendung als Bestandteil von Bäumen zur Papierherstellung.^[35, 36] Die aus den Komponenten Amylose und Amylopektin bestehende Stärke hingegen spielt eine wichtige Rolle für den menschlichen Konsum, da sie unter anderem in verschiedenen Getreidesorten und Kartoffeln enthalten ist.^[45] Zudem macht man sich Polysaccharide aus Landpflanzen und Algen als Emulsionsstabilisator, Verdickungs- und Geliermittel in der Lebensmittelindustrie zu nutze. Ihre stabilisierende Funktion wird bei der Herstellung von Suspensionen, Emulsionen und Schäumen herangezogen und kann auf unterschiedlichen Effekten basieren. Hierzu zählen beispielsweise Wechselwirkungen mit bestimmten Inhaltsstoffen, eine Erhöhung der Lösungsviskosität oder aber ein Herabsetzen der Oberflächenspannung. Des Weiteren können dünne Filme auf der Basis von Glykanen als Schutzhülle fungieren und so Oxidations-, Wasseraufnahme- oder -abgabeprozesse verhindern bzw. einschränken. Auch bedarf es in der Nahrungsmittelverarbeitung häufig einer Optimierung der Produktkonsistenz, welche oftmals durch den Einsatz von Mehrfachzuckern angestrebt wird. Durch eine Steigerung der Viskosität eines Produktes kann eine Verbesserung des sog. „mouthfeelings“ erzielt werden.^[24, 46] Werden ihre charakteristischen Gelbildungseigenschaften in der Nahrungsmittelherstellung benötigt, so macht man sich die Fähigkeit der Polysaccharide zum synergetischen Gelieren zunutze, ein Vorgang der oftmals mit einer potentiellen Reduzierung der eingesetzten Polymermengen einhergeht.^[24] Nicht zuletzt ist die Verwendung von Polyosen in der molekularen Küche zu nennen. So findet beispielsweise das zumeist aus Braunalgen gewonnene Polysaccharid Alginat bei der Herstellung kleiner Gelkugeln unterschiedlichen Geschmacks Anwendung, welche auf Grund ihrer äußeren Erscheinung auch als Kaviar bezeichnet werden (Abbildung 9). Die Darstellung basiert hierbei auf der eintretenden Gelbildung beim Eintropfen einer Natriumalginat-Lösung (beispielsweise mit Apfelsaft als Geschmacksträger) in eine Calciumchlorid-Lösung, einem ursprünglich von physikalischen Chemikern entwickelten Verfahren, welches auf den charakteristischen Wechselwirkungen des Alginats mit den zweiwertigen Calciumionen beruht (vgl. Abschnitt 2.2.3).^[47] All diesen mit Nahrungsmitteln einhergehenden Anwendungen von Polysacchariden ist dabei gemein, dass die Polymere über bestimmte Charakteristika verfügen müssen. Hierzu gehört eine physiologische Unbedenklichkeit, welche einschließt, dass die Polymere entweder unverändert wieder ausgeschieden

oder aber vom Körper metabolisiert werden können, ohne dass bedenkliche Abbauprodukte entstehen. Des Weiteren muss, je nach Anwendungsgebiet, z. B. eine ausreichende Stabilität der Makromoleküle gegenüber Fruchtsäure, Temperatureinflüssen und Verderblichkeit gegeben sein. Zudem sollten sie geruchs- und farblos sowie geschmacksneutral sein, um das eigentliche Produkt nicht in unerwünschter Weise zu beeinflussen.^[46]



Abbildung 9: Anwendungsbeispiel für Alginate in der molekularen Küche.^[48-50]

Selbige Auswahlkriterien gelten auch für bakterielle Glykane, wie das von der Gattung *Xanthomonas campestris* abgesonderte Xanthan, die in der Lebensmittelchemie zum Einsatz kommen. Polysaccharide bakteriellen Ursprungs sind u. a. ebenso in der Arznei-, Druck- und Computerindustrie von Nutzen.^[35, 44]

Tabelle 1: Etablierte Anwendungen mikrobieller Polysaccharide.^[nach 24, 51]

| | Verwendung | Polymer |
|------------------------------|--|--|
| Biologische Wirkung | Antitumormittel Augen- und Gelenkchirurgie Heparinanaloga Wundverband | β -D-Glucane Hyaluronsäure <i>E. coli</i> K 5 EPS bakterielle Cellulose |
| Chemische Wirkung | Enzymsubstrate Oligosaccharidherstellung | <i>E. coli</i> K 4 u. K 5 EPS Pullulan, Scleroglucan |
| Physikalische Wirkung | | |
| Emulsionsstabilisation | Nahrungsmittel, thixotrope Farben | Xanthan |
| Faserfestigung | akustische Membranen | bakterielle Cellulose |
| Filmbildung | Nahrungsmittelbeschichtungen | Pullulan |
| Flockungsmittel | Wasserklärung, Erzgewinnung | verschiedene |
| Schaumstabilisation | Bier, Löschflüssigkeiten | Xanthan |
| Gelierungsmittel | Zell-/Enzymtechnologie, Lebensmittel | Gellan |
| Hydratisierungsmittel | Kosmetika, Pharmazeutika | Hyaluronsäure |
| Kristallbildungsinhibitor | gefrorene Lebensmittel, Zuckersirup | Xanthan |
| Suspendierungsmittel | Lebensmittel, Papierbeschichtungen, agrochemische Pestizide und Sprays | Xanthan |

Von Mikroben erzeugte Polyosen finden allerdings deutlich weniger Verwendung auf Grund ihrer oft begrenzt zugänglichen Mengen. Eine Ausnahme bildet hier z. B. Dextran aus *Leuconostoc mesenteroides*, welches unter anderen in Blutplasmaexpandern appliziert wird und in relativ großen Mengen erhalten werden kann.^[36]

Doch dies ist nur eine der möglichen pharmazeutischen Anwendungsmöglichkeiten für Mehrfachzucker. So werden sie sowohl als indifferente Hilfsstoffe, als auch direkt als Pharmaka eingesetzt, deren Wirkung auf bestimmten chemischen und physikalischen Eigenschaften der Polymere beruht. Der zuerst genannte Aspekt ist allerdings auf quantitativer Ebene vorherrschend. Unter dem Begriff des Hilfsstoffes werden dabei alle Substanzen zusammengefasst, welche selbst keinen Hauptwirkstoff des Therapeutikums ausmachen, aber zum Zwecke der Erzeugung, Verarbeitung oder Verwendung eingesetzt werden. Auf der Basis ihrer Charakteristika (Löslichkeitsverhalten, gute Quellbarkeit infolge des Vorhandenseins hydrophiler Gruppen, spezifischen Viskosität ihrer Lösungen usw.) setzt man Polysaccharide als Füllstoffe, Sprengstoffe, Bindemittel oder auch als viskositätserhöhende Hilfsstoffe ein. In ihrer Funktion als Füll- oder auch Trägersubstanz dienen sie dem Zweck festen Arzneimittelformen das notwendige Volumen zuteilwerden zu lassen und ermöglichen somit häufig erst die Verarbeitung der Wirkstoffe. Als Sprengstoff hingegen kommt ihnen eine zerfallsfördernde Wirkung zu, welche z. B. zu einem schnellen Auflösen eines Presslings in Wasser oder im Magensaft führt. Bei ihrer Applikation als Retardierungsmittel resultiert ihre Gegenwart in einer verlangsamten Wirkstofffreisetzung, entweder durch das Herabsetzen der Wasserlöslichkeit oder eine reduzierte Wirkstoffdiffusion, da sich die für einige Glykane charakteristische Gelbildung in einer Verzögerung der Diffusionsprozesse äußert.

Vor allem für den Gebrauch in der Pharmazie, aber auch in der Sektion der Lebensmittelchemie, eignen sich nur unbedenkliche Inhaltsstoffe, welche in den verabreichten Dosen weder akut noch chronisch toxisch sind und keine cancerogenen, fruchtschädigenden, mutagenen und/oder Allergie auslösenden Eigenschaften besitzen. Hinzu kommen hohe Ansprüche in Bezug auf die Reinheit und die konstanten technologischen Eigenschaften an Polysaccharide v. a. in ihrer Funktion als pharmazeutische Rohstoffe.^[52]

In der Praxis stellt die Glykangewinnung demzufolge häufig einen Balanceakt zwischen dem Isolieren größtmöglicher Substanzmengen und einer möglichst hohen Homogenität dar. Die damit verbundenen Prozesse schließen meist Aufreinigungsschritte ein, um Fremdstoffe zu entfernen und sortenreine Einzelspezies zu erhalten. Das Abtrennen fremdartiger Substanzen umfasst die Separation von anorganischen Salzen und anderen niedermolekularen Stoffen ebenso wie das Entfernen hochmolekulargewichtiger Moleküle wie Proteine. Eine Option bietet die Behandlung mit Ionenaustauschern, der Einsatz von Gelfiltration, Elektrodialyse oder die in dieser Arbeit zur Aufreinigung verwendete Dialyse von wässrigen Lösungen. Zur

Gewinnung gelöster Polysaccharide eignet sich die hier ebenfalls angewandte Methode der Lyophilisation.^[36]

Im folgenden Abschnitt soll speziell auf die in dieser Arbeit untersuchten Polysaccharide, ihr Vorkommen, ihre charakteristischen Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten eingegangen werden.

2.2.1 Dextran

Das neutrale Homopolysaccharid Dextran ist bakteriellen Ursprungs und basiert auf Glucoseeinheiten. Synthetisiert wird es vom Stamm *Leuconostoc mesenteroides* (Abb. 10) und verwandten Mikroorganismen aus Saccharose mit Hilfe des Enzyms Saccharase.^[35, 36, 53-56]

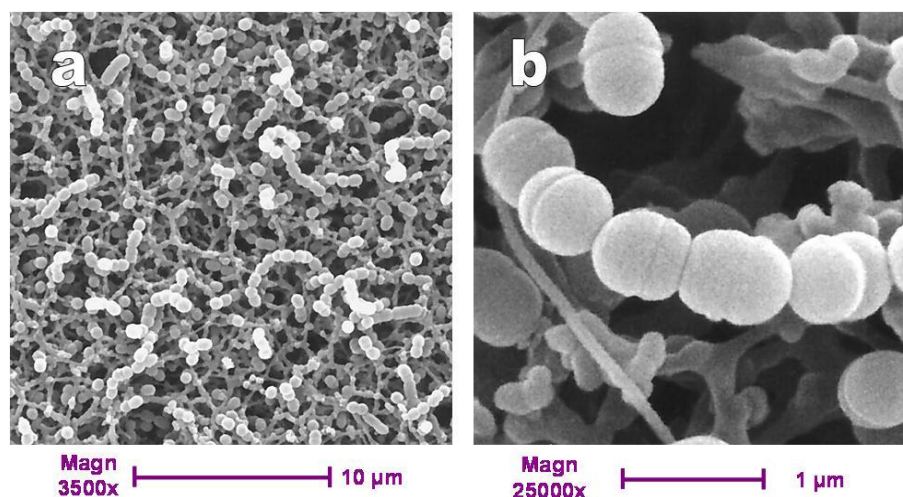


Abbildung 10: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Zellen des Stammes *L. mesenteroides* bei a) 3500-facher und b) 25000-facher Vergrößerung.^[57]

Die flexible Molekülstruktur des vorwiegend (1,6)-verknüpften α -D-Glucans (Abb. 11) beinhaltet des Weiteren (1,3)-, (1,4)- bzw. (1,2)-glykosidische Bindungen in verschiedenen Anteilen, welche zumeist den Ausgangspunkt von Verzweigungen bilden.^[35, 54, 55, 58] Das Molekulargewicht dieser Polysaccharidart liegt natürlicher Weise bei bis zu einigen Millionen Dalton.^[52]

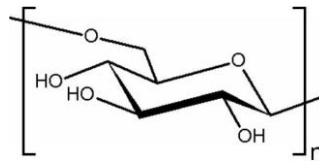


Abbildung 11: Monosaccharideinheit eines (unverzweigten) Dextranmoleküls.

Dextran findet nicht zuletzt wegen seiner guten Zugänglichkeit und den verfügbaren Mengen zahlreiche Applikationen in der Lebensmittel-, Kosmetik- und Pharmaindustrie.^[35, 36, 55] In der Medizin ist neben dem Einsatz von Dextran in der Mikrochirurgie vor allem seine Anwendung als Blutplasmaexpander hervorzuheben.^[36, 52, 53, 59] So führen definiert konzentrierte Dextran-Lösungen zu einem erheblichem Einstrom von Gewebewasser in die Blutbahn, was einen Anstieg des intravasalen Volumens zur Folge hat. Der auftretende Volumenzuwachs übertrifft dabei das Maß der infundierten Flüssigkeitsmenge. Des Weiteren zeigen dextranhaltige Blutersatzpräparate eine direkte Wirkung auf die Blutstillung und -gerinnung. Nicht nur in diesem Kontext zeigt sich der Einfluss des Molekulargewichts auf die pharmazeutische Wirkung des Dextrans. In Beziehung mit dem gerinnungshemmenden Effekt hat eine Steigerung der verabreichten Dosis, ebenso wie ein höheres Molekulargewicht, eine ausgeprägtere Homöostasestörung zur Folge. Allgemein jedoch werden zu medizinischen Zwecken zumeist hydrolytisch abgebaute Dextrane verwendet, deren molekulare Masse auf diese Weise auf unter 60000 Da abgesenkt wird, um eine gute Nierengängigkeit und kurze Verweilzeiten im Körper (12-14 h) zu gewährleisten. Der Abbau dieses Biopolymers erfolgt primär über entsprechende Enzyme in Leber und Milz.^[35, 52]

Unter bestimmten Umständen kann sich das Polysaccharid Dextran jedoch als nachteilig für die menschliche Gesundheit erweisen. So ist es Mikroorganismen des Rachenraumes möglich aus Nahrungsbestandteilen, wie Saccharose, einen Dextranfilm aufzubauen, welcher das Wachstum kariogener Bakterien erleichtert und ihnen als Nahrungsquelle zur Verfügung steht.^[35]

2.2.2 Hyaluronat

Der Begriff Hyaluronat ist eine umfassende Bezeichnung für die Salze der linearen Polyose Hyaluronsäure.^[60, 61] Dieses saure, hochmolekulare Heteropolysaccharid ist der Gruppe der sog. Glycosaminoglykane zuzuordnen, welche auch die Bezeichnung Mucopolysaccharide tragen.^[62] Der Molekülaufbau des Hyaluronats basiert auf sich wiederholenden Disaccharidsequenzen aus β -(1,3)- bzw. β -(1,4)-glykosidisch verknüpften *N*-Acetyl-D-glucosamin- und D-Glucuronsäure-Einheiten (Abb. 12).^[35, 36, 38, 63-65] Hyaluronsäureketten zeichnen sich durch

eine enorme Konformationsfreiheit und eine große Anzahl individueller Konformationen aus. Sie können sowohl einfach als auch als Doppelhelix oder in Form größerer Komplexe vorliegen. Das jeweilige Erscheinungsbild ist das Resultat der das Polyanion umgebenden Bedingungen. Die Art des vorliegenden supramolekularen Aggregats wird unter anderem bestimmt von den Gegenionen, der Temperatur und Feuchtigkeit der Umgebung bzw. in Lösung vom zugehörigen Lösungsmittel, dem pH-Wert oder auch der Konzentration.^[60-62, 66] Die Ausbildung solcher Überstrukturen kann dabei sowohl inter- als auch intramolekular sein (auch bei sehr geringen Konzentrationen).^[64]

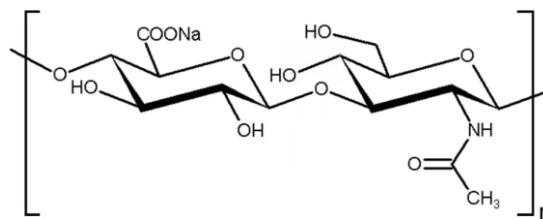


Abbildung 12: Monosaccharideinheit des Natriumhyaluronatmoleküls (links: D-Glucuronat-, rechts: N-Acetyl-D-glucosamin-Einheit).^[nach 64]

Das langkettige, geladene Makromolekül, dessen molare Masse im Bereich mehrerer Millionen Dalton liegen kann, ist von vielfältiger Bedeutung.^[35, 38, 64] Seine physiologische Relevanz beruht vor allem auf seiner Fähigkeit Änderungen der Permeabilität von Zellmembranen zu bewirken und das Eindringen infektiöser Keime zu verhindern. Diese Wirkungsweise kann durch das weit verbreitete, u. a. in Schlangengiften enthaltene Enzym Hyaluronidase aufgehoben werden, wobei eine Spaltung des Mucopolysaccharids erfolgt, welche sich ebenfalls in Form einer Viskositätsabnahme äußert.^[67]

Zu finden ist das Biopolymer Hyaluronsäure unter anderem als Bestandteil verschiedener Bindegewebsarten, in der Nabelschnur, in Haut- (z. B. im Interzellularraum der Epidermis) und Knorpelgewebe oder auch als Gleitmittel respektive zur Stoßdämpfung in der Synovialflüssigkeit.^[35, 36, 38, 64, 67, 68] Des Weiteren findet man diese Polysaccharidgattung in hohen Konzentrationen im embryonischen Gewebe oder auch als protektive Schicht um die menschliche Eizelle.^[64] Der letztgenannte Aspekt stellt dabei ein Beispiel für die Funktion von Hyaluronsäure als Semipermeabilitätsbarriere dar. In diesem Zusammenhang kann erwähnt werden, dass das im Sperma befindliche Enzym Hyaluronidase auch beim Befruchtungsvorgang ebenfalls von Bedeutung ist.^[67]

Die erste Isolierung der Hyaluronsäure erfolgte aus dem Glaskörper des Auges (Abb. 13), worauf auch die Namensgebung des Polysaccharids beruht (griech. „hyalin“: glasig, glasar-tig).^[64, 67-69]

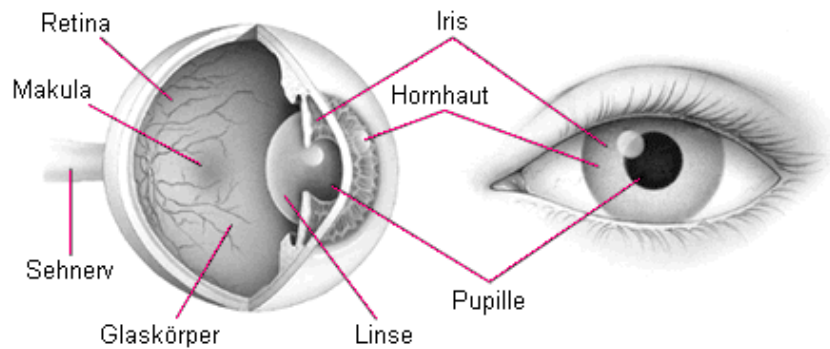


Abbildung 13: Schematische Darstellung zur Anatomie des Auges. ^[nach 70]

Entsprechend naheliegend sind einige der zahlreichen medizinischen und pharmazeutischen Applikationen der Hyaluronsäure und ihrer Derivate. Ein Beispiel hierfür bilden hyaluronsäurehaltige Beschichtungen von Augenimplantaten oder auch Kontaktlinsen.^[71] Verwendung finden ebenso intraokular-chirurgisch benötigte Glaskörperersatzflüssigkeiten auf der Basis dieses Glycosaminoglykans.^[72] Wegen seiner physikochemischen und biologischen Eigenschaften, wie seiner Viskoelastizität, Wasserbindungskapazitäten und Biokompatibilität, findet das Polysaccharid neben klinischen Anwendungen in der plastischen Chirurgie, bei Arthritisbehandlungen, bei Verbrennungen oder in der Augenchirurgie auch Applikationen in der Nahrungsmittel- und Kosmetikindustrie.^[63, 65]

Die Gewinnung des vielgenutzten Polysaccharids erfolgte ursprünglich aus bovinen Glaskörpern, später auch durch Extraktion aus anderen Gewebearten tierischer Herkunft, wie der Synovialflüssigkeit, Knorpel, Nabelschnurgewebe oder aus Hahnenkämme. Auf Grund des hohen Bedarfs und der strikten Regularien in Bezug auf die Verwendung tierischer Produkte zeigt sich das gesteigerte Interesse im Hinblick auf fermentativ produzierte Hyaluronsäure. Die fermentative Generierung des Mucopolysaccharids basiert meist auf Mikroorganismen des Bakterienstammes *Streptococcus zooepidemicus* (Abb. 14) und beinhaltet das Potential zur Anwendung im industriellen Maßstab aufgrund hoher Erträge und vergleichsweise geringer Kosten.^[60, 63, 65]

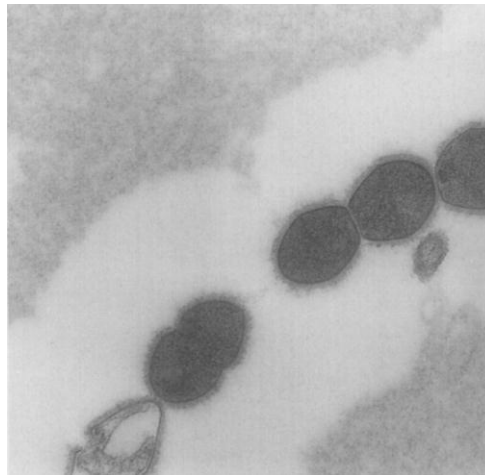


Abbildung 14: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Bakterien des Stammes *Streptococcus zooepidemicus* bei 100000-facher Vergrößerung.^[73]

2.2.3 Alginat

Der Überbegriff des Alginats wird allgemein für die Salze des Polysaccharids Alginsäure verwendet. Der Molekulaufbau des linearen, unverzweigten, anionischen Copolymers Alginat basiert auf den (1,4)-verknüpften Zuckerbausteinen β -D-Mannuronat und α -L-Guluronat, den sogenannten M- und G-Einheiten, in verschiedensten Anordnungen und Verhältnissen (Abb. 15).^[15, 35, 36, 38, 74] Der Polymerisationsgrad liegt durchschnittlich bei 100 bis 3000 Monomereinheiten je Molekülkette, entsprechend molaren Massen im Bereich zwischen 20000 und 600000 g/mol.^[75]

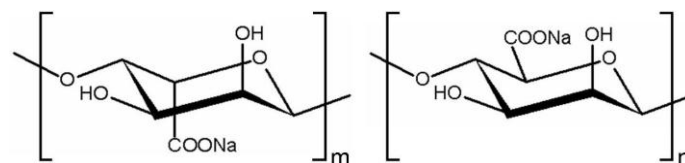


Abbildung 15: Monosaccharideinheiten des Natriumalginatmoleküls (links: α -L-Guluronat-, rechts: β -D-Mannuronat-Einheit).

Der Kettenaufbau kann dabei sowohl hetero- als auch homopolymere Bereiche beinhalten. Neben Sequenzen, in denen die Bausteine statistisch verteilt auftreten, findet man ebenso solche, in denen ein alternierender Aufbau vorliegt (MGMG).^[74, 76] Kettensegmente, welche lediglich aus einer der beiden Bausteine bestehen, werden M- respektive G-Blöcke genannt. Die Reihenfolge der unterschiedlichen Monomereinheiten bestimmt die Anordnung der Verknüpfungen, welche demzufolge sowohl axial-axial (GG), axial-äquatorial (GM), äquatorial-

axial (MG) oder auch äquatorial-äquatorial (MM) sein können (Abb. 16).^[35, 75] Dementsprechend zeichnen sich Polyguluronat-Kettensegmente durch eine deutlich höhere Steifheit aus als Polymannuronat-Bereiche.^[75]

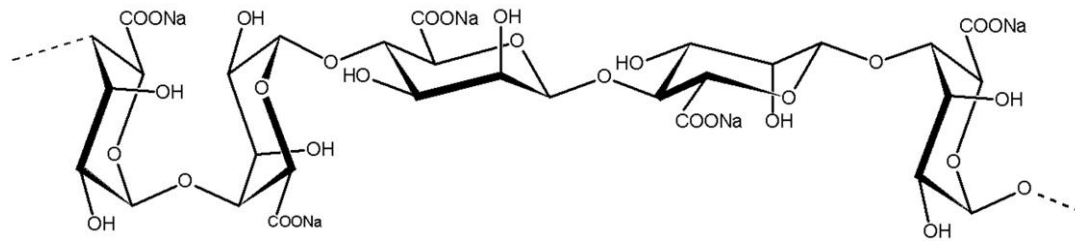


Abbildung 16: Beispielhafte Darstellung zur Veranschaulichung der verknüpfungsbedingten Molekülstruktur eines Natriumalginatmoleküls anhand einer GGMMG-Sequenz.^[nach 77]

Die unterschiedlichen Verknüpfungsarten haben zudem Einfluss auf die Strukturbildung bzw. Ionenanbindung des Alginats, welches als anionisches Polyelektrolyt, ebenso wie die Hyaluronsäure, dazu befähigt ist, mit Kationen in Wechselwirkung zu treten und sie zu binden. Hierbei beeinflussen die gebundenen Ionen die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Alginats. Während man beispielsweise durch das Lösen von Natriumalginat in Wasser eine hochviskose Lösung ohne Tendenz zur Gelbildung erhält, setzt beim Austausch der monovalenten (Natrium-)Ionen gegen zweiwertige Kationen, wie etwa durch Zugabe von Calciumsalzen, die Gelierung des Systems ein.^[37] Zwecks Analyse und Beschreibung der zu Grunde liegenden Vorgänge wurden u. a. Messungen der Ionenaktivitäten von Calciumalginat-Gelen sowie Modellrechnungen zur Konformation von Alginatketten durchgeführt. An Hand dieser schlugen Rees et al. 1978 das sogenannte egg-box-Modell als Mechanismus der calciumioneninduzierten Gelierung von Alginaten vor (Abb. 17).^[78]

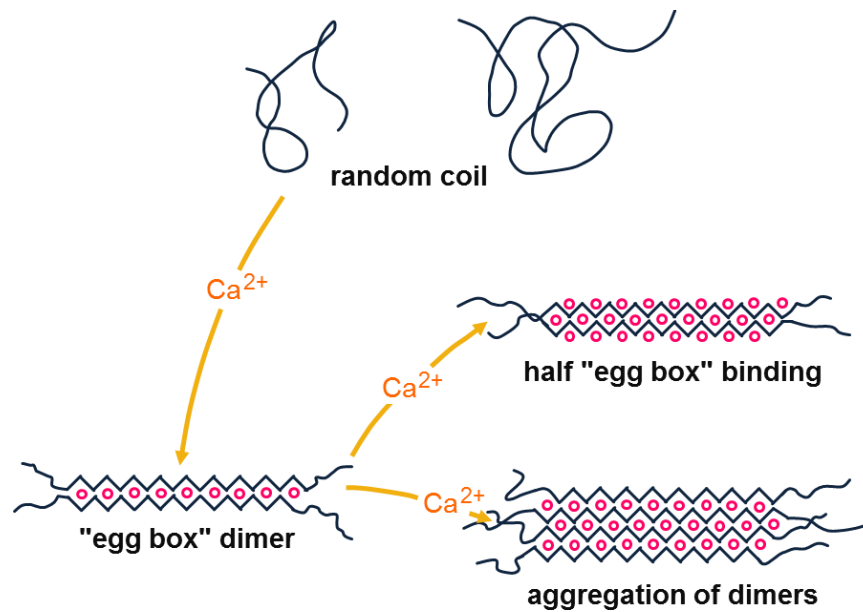


Abbildung 17: Schematische Darstellung des egg-box-Modells.^[nach 78]

Diesem Modell gemäß basiert der Gelbildungsprozess vor allem auf den G-Blöcken des Copolymers, bestehend aus mindestens 20 Guluronsäureeinheiten. Die biaxialen Verknüpfungen dieser Zuckerbausteine resultieren in einer stark gefaltete Kettenkonformation, deren Hohlräume einen Durchmesser aufweisen, welcher sie zur Anbindung der Calciumionen befähigt. Durch die Position und Anordnung der Sauerstoffatome innerhalb dieser Hohlräume kommt es durch die Einlagerung der bivalenten Ionen zu einer Stabilisierung des Komplexes. Bei ausreichend hoher Kation- und Alginat-Konzentration tritt eine parallele, auf intermolekularen Salzbrücken basierende Dimerisierung der zuvor als Zufallsknäuel (random coil) vorliegenden Polymerketten auf, welche sich in der Ausbildung hochgeordneter Kettensegmente äußert.^[38, 74] Entsprechend der Modellvorstellung können bei höheren Ca^{2+} - und Alginat-Konzentrationen mehrere Dimere assoziieren, die zwischen ihnen bestehenden Verbrückungen erweisen sich allerdings als wesentlich schwächer. M-Blöcke und alternierende Sequenzen sind nicht oder nur geringfügig an der Chelatbildung beteiligt und verhindern somit ein vollständiges Kristallisieren.^[74, 76] Dementsprechend übt die chemische Zusammensetzung und vor allem das M/G-Verhältnis einen großen Einfluss die Gelstärke aus, aber auch Faktoren wie die Ionenstärke, die Lösungsmittelaktivität oder die Temperatur sind in diesem Zusammenhang nicht zu vernachlässigen.^[74, 79]

Die Alginsäure und ihre Salze können sowohl bakterieller als auch algaler Herkunft sein. Man findet diese Glykanart unter anderem in den extrazellulären polymeren Substanzen der Bakterienart *Pseudomonas aeruginosa*. Hierbei handelt es sich um einen häufig verwendeten Modellorganismus in der Biofilmforschung mit Alginat als Haupt-EPS-Komponente.^[14, 16] Bei den Mikroorganismen dieses Stammes handelt es sich um stäbchenförmige Bakterien

mit einer Länge zwischen 2 und 4 μm (Abb. 18), welche in der Lage sind innerhalb von 24 h durch eine Überproduktion an Alginat einen schleimartigen Biofilm auszubilden.^[15, 16]

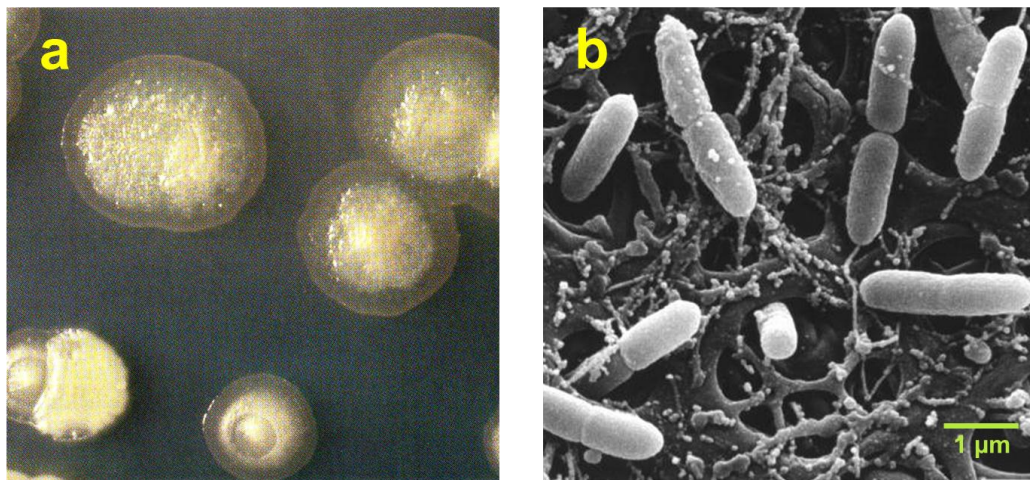


Abbildung 18: *Pseudomonas aeruginosa*; a) Bakterienkolonie auf Trypticase-Soja-Agar,^[56] b) elektronenmikroskopische Aufnahme einzelner Bakterien im ausgebildeten Biofilm.^[80]

In bakteriellen, Alginat produzierenden Systemen ist es den Mikroorganismen möglich zunächst Mannuronatketten zu synthetisieren und danach diese Einheiten zu Guluronat zu konvertieren. Das Konvertieren entspricht einer chemischen Veränderung, welche die Inversion der Carboxylgruppe am C5-Atom beinhaltet und dem Bakterium die Option zur Steuerung des relevanten M/G-Verhältnisses und somit der korrelierenden Gelstärke bietet.^[15, 76]

Das Polysaccharid Alginat ist ebenso als Bestandteil der Zellwände verschiedener Braunalgenarten (Phaeophyta) zu finden.^[35-37, 76, 79] Die Extraktion des vielfach verwendeten und pH-empfindlichen Mehrfachzuckers erfolgt durch Behandlung zerkleinerten Algenmaterials mit heißer Sodalösung und anschließender Fällung des Natriumsalzes der Alginsäure mittels verdünnter Säure.^[36, 37, 46, 52] Oftmals ist Alginat allerdings auch ein gezielt isoliertes Nebenprodukt bei der Gewinnung von Jod aus Braunalgen. Die Charakteristika der resultierenden Produkte, sprich das M/G-Verhältnis, sowie der Polymerisationsgrad des Natriumalginate, sind sowohl geprägt von der Gattung, der geographischen Herkunft als auch dem Reifegrad des Algenmaterials. Nicht zuletzt sind auch saisonal bedingte Zusammensetzungsschwankungen zu nennen.^[75]



Abbildung 19: Beispiel einer Braunalgenart: Golftang.^[81]

Das breite Anwendungsspektrum der Polyose Alginat umfasst die Lebensmitteltechnologie ebenso wie den medizinischen und pharmazeutischen Sektor. Neben dem bereits erwähnten Einsatz in der molekularen Küche (Abschnitt 2.2) dient Alginat in der Lebensmittelindustrie ebenso als Emulsions- und Schaumstabilisator, sowie als Verdickungs- und Geliermittel.^[35, 36] Ein Applikationsbeispiel hierzu bildet die Nutzung von Alginat bei der Käseherstellung, bei welcher durch Zugabe von Hydrokolloiden zur Milch während des Labvorgangs eine verbesserte Ausbeute und Bruchkonsistenz erzielt und zudem, durch eine intensivere Wasserbindung, eine Austrocknungsverzögerung erreicht werden kann.^[46] Ein weiteres Beispiel stellt die Verwendung von Natriumalginat in der Speiseeisherstellung dar, durch welche u. a. eine geschmeidigere Produktstruktur und eine Stabilisierung von Feststoffen in der Eismatrix bewirkt werden kann. Mit Hilfe des Polysaccharids kann hierbei darüber hinaus eine Separation von Fett- und Wasserphase, sowie ein Auskristallisieren des enthaltenen Zuckers inhibiert werden. Ein weiterer Nutzen ist eine Verminderung der Abschmelzgeschwindigkeit. Alginathaltiger Pudding erweist sich ebenfalls als formstabiler und cremiger.^[36, 46] Neben Natriumalginat (E 401) kommen in der Nahrungsmittelindustrie z. B. auch die entsprechenden Kalium- (E 402), Ammonium- (E 403) und Calciumsalze (E 404) der Alginsäure (E 400) zum Einsatz.^[82]

Die festigenden und rheologiemoifizierenden Eigenschaften des Polysaccharids zeigen sich nicht nur in der Lebensmittelverarbeitung von Vorteil. Neben seiner Wirkung als Tabletten-sprengagens und seiner Aufgabe als Füllstoff/Trägermaterial fungiert Alginat in zahlreichen pharmazeutischen Erzeugnissen, wie Salben, Cremes und Gelees, als Stabilisator.^[52] Der letztgenannte Aspekt legitimiert Alginat als Inhaltsstoff in Kosmetikprodukten.

Im medizinischen Sektor macht man sich u. a. den hydrophilen Charakter und die ultimative Löslichkeit des Glykans zunutze und profitiert zudem davon, dass es sich bei dem Material Alginat um einen ungiftigen, nicht krebserregenden, biokompatiblen und sterilisierbaren Werkstoff handelt, der außerdem günstige Verarbeitungstechnologien bietet. Exemplarisch lässt sich hier die Verwendung von Alginatfasern zum Einstecken in Hohlräume bei der zahnärztlichen Chirurgie nennen. Ein weiteres Einsatzgebiet stellt die Zelltransplantation dar, bei der Alginatschwämme als Gerüstsubstanz eingesetzt werden können.^[79] Wundauflagen und Kompressen auf Alginat-Basis sind ebenfalls Bestandteil medizinischer Behandlungsmethoden.^[83]

Biologische, alginathaltige Klebstoffe werden unter anderem als Teilelement von Akkus diskutiert. US-Forscher haben bereits Elektroden mit einer solchen Alginatkomponente entwickelt, welche einen Energiespeicher mit einer achtmal höheren Kapazität im Vergleich zu herkömmlichen Akkus ermöglichen sollen, ein Vorteil, welcher zudem von der Umweltfreundlichkeit des Ausgangsmaterials untermauert wird.^[24, 81]

Der Einsatz von Algen-EPS zwecks Entfernung wässriger Metallkontaminationen gilt es ebenso zu erwähnen.^[24]

Auf Grund seiner herausragenden Charakteristika und seiner vielfachen Anwendungsmöglichkeiten handelt es sich beim Alginat um ein vieluntersuchtes Polysaccharid. Auch hier zeigt sich im Hinblick auf die Strukturanalyse die Bedeutung der Kernresonanzspektroskopie, mit deren Hilfe beispielsweise die Abstände zwischen Polysaccharidsequenzen berechnet werden können (Abb. 20).^[43, 84] Diese Abstände und der daraus resultierende Raum zwischen den Monomereinheiten des Alginats hat einen entscheidenden Einfluss auf die Kationenkomplexierung durch das Polysaccharid. Des Weiteren kann mit Hilfe der NMR-Technologie bequem das (vor allem für die Gelbildung entscheidende) M/G-Verhältnis bestimmt werden.^[79]

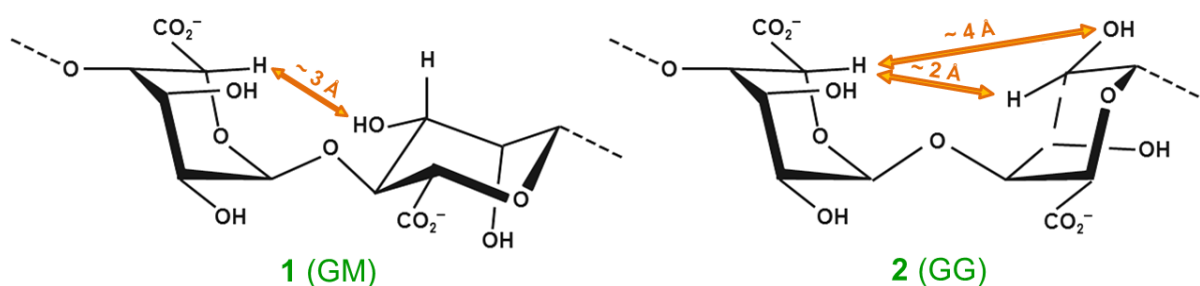


Abbildung 20: Berechnete Abstände funktioneller Gruppen einer GM- bzw. GG-Sequenz eines Alginatmoleküls.^[nach 84]

2.3 Umweltbelastungen durch Schwermetalle und Schadstoffe

Erhöhte Vorkommen an Schwermetallen und anderen schädlichen Substanzen in Böden und Gewässern stellen ein Risiko für Pflanzen, Tiere und Menschen dar und rücken die Notwendigkeit der Verbesserung und Entwicklung wirksamer Reinigungs- bzw. Entfernungsmöglichkeiten in den Interessenbereich von Wissenschaft und Forschung. Verkompliziert wird die wissenschaftliche Behandlung dieser Aufgabenstellung durch die Tatsache, dass es sich bei den Bezeichnungen der „Schwermetalle“ und „Schadstoffe“ respektive „Böden“, „Pflanzen“ und „Gewässer“ lediglich um Sammelbegriffe handelt, welche sehr unterschiedliche Systeme mit verschiedenartigen Einflüssen, Wechselwirkungen und Reaktionen umfassen können.^[9]

So zeigen unterschiedliche Böden ein divergentes Sorptionsverhalten gegenüber Nährstoffen und Schwermetallen, nicht zuletzt auf Grund von abweichenden Zusammensetzungen und Unterschieden im Ausmaß ihrer Schichten und Horizonte, sowie differierenden Umgebungsbedingungen, wie Nährstoffversorgung und Wasserangebot; Faktoren, welche zudem die Fruchtbarkeit des Bodens und somit im gewissen Maße auch den Schwermetallübergang vom Boden zur Pflanze beeinflussen.

Ähnlich umfassend ist der Pflanzenbegriff, da sich pflanzliche Organismen nicht nur im Hinblick auf ihre Art und Herkunft unterscheiden, sondern auch ein variierendes, genotypisch determiniertes Schwermetallabsorptionsvermögen aufweisen.^[9, 85-87]

Eine exakte Zuordnung zum relativ willkürlichen Begriff des Schwermetalls ist auf Grund dessen, dass keine verbindliche Definition existiert, nur bedingt möglich. Je nach Quelle findet man unterschiedliche Klassifizierungen und abweichende Auflistungen. Eine Vorhersage über die physikalischen, chemischen, biologischen und toxikologischen Eigenschaften der entsprechenden Elemente ist demnach nur eingeschränkt realisierbar.^[88] Eine mögliche Definition des Schwermetallbegriffes umfasst Metalle mit einer Dichte über 5 g/cm^3 (zum Teil wird als Grenzwert auch 6 g/cm^3 angegeben).^[85] Hierzu zählen auch die im Zuge dieser Arbeit untersuchten Elemente Nickel, Zink, Cadmium, Blei, Chrom und Uran. Auch Metalloide, sprich Elemente die nur partiell über metallische Charakteristika verfügen, können bei ausreichend hoher Dichte diesem Oberbegriff zugewiesen werden. Beispielsweise lassen sich die Halbmetalle Germanium, Arsen, Antimon, Tellur und Polonium der Gruppe der Schwermetalle zuordnen.^[85]

Auch wenn man verallgemeinert stets von den schädlichen Wirkungseigenschaften aller Schwermetalle ausgeht, so gilt es dennoch zu berücksichtigen, dass es sich bei einigen dieser um essentielle Spurenelemente handelt und sie demzufolge für verschiedene Stoffwechselvorgänge und die Aufrechterhaltung wichtiger Lebensfunktionen notwendig sind. So sind

beispielsweise Kupfer, Eisen, Mangan und Zink für pflanzliche Organismen ebenso unverzichtbar wie für Menschen und Tiere. Andere Substanzen, wie Blei, Cadmium, Quecksilber und deren Verbindungen, haben schädigende Effekte und sind nicht-essentiell.^[85, 89] Die Wirkung der Metalle ist hierbei konzentrationsabhängig, ein zu hoher Gehalt eines Metalls, sei es essentieller oder nicht-essentieller Natur, erweist sich als entsprechend schädlich bzw. toxisch, wie in Abbildung 21 anhand des Einflusses der Schwermetallkonzentration auf das Pflanzenwachstums verdeutlicht ist.^[85]

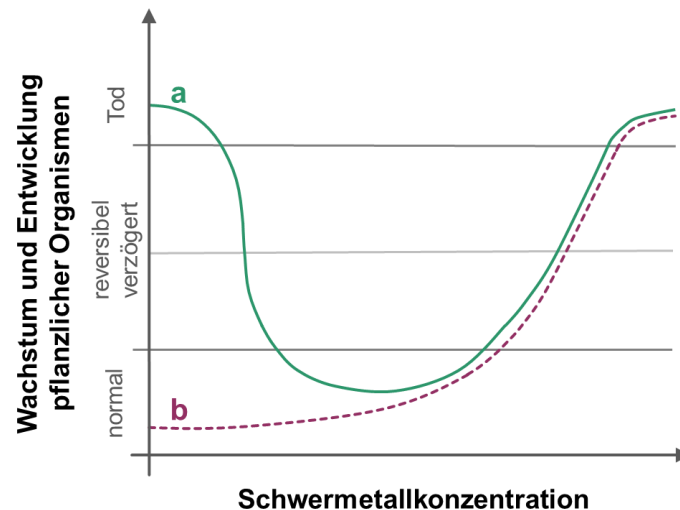


Abbildung 21: Schematische Darstellung der Folgen unterschiedlicher Konzentrationen a) essentieller und b) nicht-essentieller Schwermetalle auf das Wachstum und die Entwicklung pflanzlicher Organismen.^[nach 90]

Ein erhöhter Gehalt an Schwermetallen in Böden und Gewässern und damit der Eintrag in den Ernährungspfad Pflanze-Tier-Mensch können vielfältige Ursachen haben. Natürliche Kausalitäten sind dabei ebenso zu berücksichtigen wie anthropogene Verschmutzungen.^[91]

So findet man Schwermetalle, wie auch das ubiquitäre Uran, als natürlichen Bestandteil von Mineralien und Sedimenten, welche infolge von Verwitterungsprozessen auch in Böden und Gewässern in standortabhängig variierenden Mengen zu finden sind.^[7, 85, 92] Exemplarisch lässt sich hierzu die Urankonzentration deutscher Mineralwässer anführen, welche mit durchschnittlich 3.08 µg/L deutlich höher liegt als die der Leitungswässer mit lediglich 0.43 µg/L.^[93] Nur selten liegen die natürlich bedingten Schwermetallgehalte in Böden und Gewässern jedoch im umwelt- und gesundheitsschädlichen Bereich, nichtsdestotrotz sind Überschreitungen der Grenzwerte möglich. Ein Beispiel hierzu bildet der hohe Arsengehalt in den Gewässern Bangladeschs. Hier nehmen über 70 Millionen Bewohner mit jedem Liter Wasser mehr als 10 µg des giftigen Elements zu sich, eine Menge, die nach einigen Jahren bereits erhebliche Gesundheitsstörungen nach sich ziehen kann. Bei ca. 30 Millionen Menschen in diesem Land sind es sogar mehr als 50 µg Arsen pro Liter. Ein weiteres, mit diesem

Aspekt einhergehendes Problem ist die Aufnahme des Arsens aus dem Boden und Grundwasser durch Nutzpflanzen wie Reis und die damit gesteigerte Belastung der Bevölkerung. Es handelt sich hierbei allerdings nicht um eine regionale Singularität; so wurden beispielsweise auch in Ungarn, Vietnam, Taiwan, Mexiko, Chile und Argentinien erhöhte Arsenkonzentrationen im Trinkwasser bestimmt. Doch nicht immer sind die Probleme geogenen Ursprungs; viel mehr findet man arsenbelastetes Wasser in Regionen wie China oder Zentralindien, welche Mineralabbau mittels Wasserausspülung betreiben.^[3] Dies gilt jedoch nicht allein für Kontaminationen mit Arsen; in diesem Zusammenhang ist ebenfalls das markante Beispiel des verunreinigten Grund- und Oberflächenwassers in den Bereichen rund um die Kupfer- und Goldminen in Südafrika zu erwähnen, welches neben einer gesteigerten Arsenkonzentration auch erhöhte Gehalte an Zink, Kupfer, Kobalt, Cadmium und Uran aufweist. Ähnliche Phänomene und überproportionale Urananreicherungen in Böden finden sich in nahezu allen Regionen, welche von Bergbau und erzverarbeitenden Industriezweigen geprägt sind.^[7-9]

Auch andere Industriezweige, deren Produktionen sich auf die Verwendung von Schwermetallen stützen, tragen durch ihre Abfälle und Abwässer zur Belastung der Umwelt bei. Verunreinigte Gewässer in der Nähe von Industriestandorten (so z. B. in China) sind dementsprechend zahlreich.^[3] Dieser Effekt wird u. U. verstärkt durch eine hohe räumliche Konzentration an Produktionsstätten, Dienstleistungseinrichtungen und Gewerbezentren, sowie ausgedehnte Siedlungsgebiete verbunden mit einem entsprechend hohen Aufkommen an Abprodukten.^[9] Die Kontamination von Gewässern und Böden kann so sowohl das Ergebnis nicht ausreichend gesicherter Deponien, als auch eine Folgeerscheinung unsachgemäß behandelte und entsorgte Feststoffe und Flüssigkeiten sein. Oftmals spielen aber auch andere Aspekte wie Unfälle und Naturkatastrophen eine Rolle. So können beispielsweise die Inhalte von Klär- und Abwasserbecken durch Überschwemmungen oder Dammbrüche in umliegende Gebiete, Flüsse und Bäche gelangen. Zu diesen Gebieten zählen zum Beispiel einige Bereiche im Norden Ungarns. Daraus folgend findet man in betroffenen Regionen u. a. schwermetallbelastete Gärten mit hohen Konzentrationen an Arsen, Cadmium, Blei, Quecksilber und Zink im Oberboden. Hier angebaute Obst- und Gemüseprodukte sind ein potentielles Gesundheitsrisiko für die dortige Bevölkerung.^[8] In diesem Zusammenhang lässt sich zudem der Begriff des „red sludge“ anführen.^[5]

Neben den bereits genannten Eintragspfaden für Schwermetalle spielt auch die Verwendung von Phosphatdüngern in der Landwirtschaft eine wesentliche Rolle. Die Herstellung dieser Düngemittel erfolgt aus Rohphosphaten, welche zu 87% sedimentärer Natur sind und einen, der Herkunft des Ausgangsmaterials entsprechenden, Schwermetallgehalt aufweisen. Da die Metalle dabei (prozessbedingt) zu 60-70% in den resultierenden Mineraldünger übertragen

werden, ergeben sich korrelierende Zusammensetzungen.^[85, 91] Auf Grund der Tatsache, dass Phosphatgestein meist größere Uranmengen beinhaltet, welches standortabhängig Werte von 100 mg/kg leicht überschreiten kann (z. B. in sedimentären Ablagerungen aus den USA, Marokko oder dem mittleren Osten), findet man infolge dessen in Mineraldüngern teilweise hohe Urankonzentrationen, die in Einzelfällen über 360 mg/kg liegen.^[87, 91] Als Vergleichswert hierzu lässt sich anführen, dass der natürliche Urangehalt nicht-befruchteter Böden normalerweise in einem Bereich zwischen 0.8 und 11 mg/kg liegt.^[7] Die landwirtschaftlichen Düngung auf Basis dieser Materialien kann zu einem Eintrag des chemo- und radiotoxischen Elements von 2.8-16.8 g/ha im Jahr führen.^[92] Auch hohe Konzentrationen an Cadmium sind in Phosphatdüngern oft nachweisbar und eine entsprechende Belastung der Ackerböden demnach nicht zu vernachlässigen.^[85]

Durch das Eindringen phytotoxischer bzw. human- und zootoxischer Elemente kommt es zu Schädigungen des Ökosystems Boden, einer nicht-erneuerbaren Quelle, welche das Fundament der Nahrungsmittelproduktion bildet und dessen Wasserfiltrations- und -speicherkfunktion unerlässlich ist.^[9, 94] Die Auswirkungen sind unter anderem eine nachteilige Entwicklung der Bodenfruchtbarkeit, zum Teil bedingt durch die toxischen Effekte einiger Schwermetalle (wie Zink und Kupfer) in Bezug auf Bodenmikroorganismen.^[85, 94] Langfristig respektive intensiv bewirtschaftete und gedüngte Agrarflächen weisen häufig eine Akkumulation der Schwermetalle auf.^[7] Das Ausmaß der Anreicherung kann dabei durch eine phytogene Aufnahme/Auslaugung des Bodens oder durch eine Auswaschung und einer damit einhergehenden Translokalisierung in oberflächennahe Grund- und Trinkwässer abgeschwächt werden.^[87, 91-93] Diese Aspekte ziehen wiederum anderweitig negative Konsequenzen nach sich.

Die pflanzliche Ingestion von Schwermetallen bildet, neben der toxischen Wirkung auf die pflanzlichen Organismen selbst, einen potentiellen Eintragspfad in die Nahrungskette. Hierbei gibt es verschiedene Einflussfaktoren, die die Aufnahme (das sog. „bio-response“) bestimmen, diese verstärken oder inhibieren können. So spielen sowohl die Gesamtmenge an Schwermetallen, als auch ihre Löslichkeit, sowie Mobilität im Boden und daraus resultierend ihre Verfügbarkeit eine entscheidende Rolle.^[87] Diese Größen sind zum einen elementspezifisch, zum anderen abhängig von den standorttypischen Bedingungen und Bodencharakteristika. Hierzu zählen die Textur des Bodens, sein Humusgehalt, das vorhandene Nährstoff- und Wasserangebot, die Bodenfruchtbarkeit, Bewirtschaftungsmaßnahmen oder auch der pH-Wert, welcher u. a. für die vorliegende Spezies der Elemente verantwortlich ist.^[7, 9, 85, 92] Die Schwermetallkonzentration in den einzelnen Pflanzenteilen wird zudem dadurch bestimmt, in wie weit die über die Wurzeln absorbierten Substanzen im Wachstumsverlauf auch in die übrigen Organe transferiert werden. Der Gesamtgehalt in den Pflanzen ist außerdem davon abhängig, ob es sich um sogenannte Akkumulator-, Indikator- oder Exkluder-

arten handelt. Während letztere einen stets geringeren Schwermetallgehalt als der Boden aufweisen, sind die Konzentrationen bei Indikatorpflanzen dem der Böden entsprechend. Bei Akkumulatorarten hingegen findet man sogar Schwermetallgehalte, welche die des Bodens übertreffen (Tabelle 2).^[9] Auch berücksichtigt werden muss der Aspekt, dass einige Pflanzen selektiv und spezifisch bestimmte Schwermetalle aufnehmen, wie es beispielsweise bei der Cd-Akkumulation durch Reis, Spinat und Sellerie der Fall ist.^[89] In Bezug auf die Konzentrationen gilt es ebenso den Zuwachs an Biomasse miteinzukalkulieren, da ein vergleichsweise großer Anstieg dieser einen gewissen Verdünnungseffekt mit sich zieht.^[7]

Tabelle 2: Einteilung ausgewählter Pflanzen und pflanzlicher Organe entsprechend ihrer Schwermetall- bzw. Cd-Aufnahme.^[nach 9]

| Exkluder- | Indikator- | Akkumulator-pflanzen/organe |
|------------------|-------------------|-----------------------------|
| Getreidekörner | Haferstroh | Blätter von |
| Buschbohnen | Grünhafer | • Futterrüben |
| Maiskolben | Maisstängel | • Salat |
| Kartoffelknollen | Möhrenwurzeln | • Spinat |
| | Blumenkohlblätter | • Kartoffeln |
| | | Sellerieknollen |

Neben der Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch den Verzehr entsprechender pflanzlicher Lebensmittel ist auch eine Schädigung durch tierische Nahrungsquellen (Fleisch, Eier, Milch etc.) zu berücksichtigen, da durch schwermetallhaltige Futtermittel Tiere ebenso belastet werden können.^[7] Nutztiere nehmen z. T. zusätzlich Schwermetalle über das Trinkwasser, Futtermittelzusätze zur Leistungssteigerung, Trägersubstanzen für Tiermedikamente, Stroheinstreu und Abrieb von metallischen Stalleinrichtungen auf.^[85] Vor allem in tierischen Filterorganen, wie Leber und Nieren, finden sich besonders hohe Schwermetallinhalte. Da des Weiteren der Kot der Tiere stärker belastet wird, kommt es ggf. zur Verschleppung der Schwermetalle sprich zur Kontamination von Weideflächen, doch vor allem der Einsatz von Wirtschaftsdüngern (mit oftmals hohen Kupfer- und Zinkkonzentrationen) erweist sich so als kritisch.^[9, 85] Landwirtschaftlich genutzte Klärschlämme führen u. U. zu erheblichen Schwermetallfrachten auf Äckern. Zwar gibt es verbindliche, durch die Klärschlammverordnung geregelte Grenzwerte hinsichtlich ihrer Metallgehalte, dennoch sind sie oft stark belastet durch häusliche und industrielle Abwässer. So gelangen aus der Korrosion von Wasserleitungen herrührende oder über Medikamente und Hygieneprodukte freigesetzte Schwermetalle, wie Silber, Arsen, Kupfer, Quecksilber und Zink, in häusliche Abwässer und durch Klärschlämme im ungünstigen Fall in Agrarböden.^[9, 85, 94] Im Zusammenhang mit Arzneimitteln im Abwasser lässt sich die Belastung von Krankenhausabwässern und Abwässern aus Arztpraxen, in denen radiologische Untersuchungen durchgeführt werden, ebenso anführen.

Diese werden zwar vor der Einleitung in kommunale Abwässer mehrstufig desinfiziert, Substanzen wie Röntgenkontrastmittel können hierdurch jedoch nicht entfernt werden.^[95] Diese, für bildgebende Verfahren eingesetzten, meist auf Barium basierenden Diagnostika werden in relativ großen Mengen eingesetzt. So betrugen die relevanten Verbrauchsmengen an bariumhaltigen Kontrastmitteln im Jahr 1997 in Deutschland 22172 kg.^[96] Hieraus folgend und auf Grund der hohen Persistenz und Mobilität der Substanzen ist die daraus resultierende Wasserkontamination als kritisch zu beurteilen.^[95]

Neben der bereits genannten Problematik in Verbindung mit kontaminierten Futter- und Lebensmittelpflanzen können nicht zuletzt auch auf belasteten Bodenflächen wachsende Rohstoffpflanzen aus dem Non-Food-Bereich problembehaftet sein. Auch wenn diese nicht direkt durch den Menschen konsumiert oder als Futtermittel verwendet werden, so können sie dennoch von Wildtieren gefressen werden und auf diesem Weg in die Nahrungskette gelangen. Kontaminierte Ernte- und Produktionsrückstände aus dem Rohstoff- oder Energiepflanzenanbau bedürfen zudem eine fachgerechte Aufarbeitung und Entsorgung, da die enthaltenen Schadstoffe sonst möglicherweise auf anderen Pfaden in die Nahrungskette gelangen können. Eine Übersicht unterschiedlicher Eintragsmöglichkeiten an Hand des Beispielschwermetalls Cadmium ist in Abbildung 22 dargestellt.

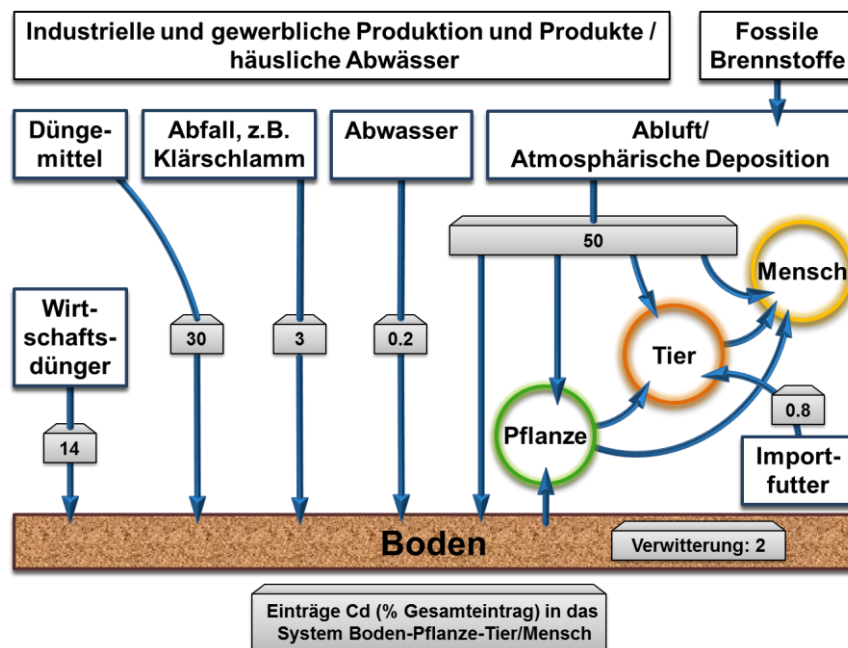


Abbildung 22: Schematische Darstellung zur relativen Bedeutung möglicher Eintragspfade von Schwermetallkontaminationen in das System Boden-Pflanze-Tier/Mensch am Beispiel Cadmium.^[nach 85]

In Bezug auf das Schwermetall Uran, welches neben seiner chemischen Toxizität ein radio-logisches Gefahrenpotential durch α -Strahlung aufweist, gilt es auch militärische Operatio-

nen als weitere Gefährdung des Ökosystems Boden bzw. des Grundwassers in entsprechenden Gebieten zu berücksichtigen. So können unter Verwendung von sog. „Depleted Uranium“, sprich abgereicherten Uranabfällen aus der Kernspaltung, hergestellte Munitionsbestandteile oder fehlgeschlagene Geschosse langfristig eine potentielle Quelle für giftige, pflanzenaufnehmbare Uranverbindungen sein. Unauffindbare Projektile können durch fortschreitende Korrosion nachhaltigen Einfluss auf Pflanzenwurzeln, Bodenwasser und Bodentiere ausüben.^[7] Vor allem die relativ hohe Mobilität in Böden, welche Uran im Gegensatz zu anderen Schwermetallen aufzeigt, erweist sich auf Grund der Translokalisierung in das Grundwasser als kritisch.^[91]

Verschmutzte und mit Schwermetallen kontaminierte Gewässer spielen nicht nur in Bezug auf die direkte Aufnahme durch Trinkwasser eine Rolle. Neben den bereits genannten Aspekten ist auch die Schwermetallingestion durch den Verzehr von Lebensmitteln aus dem aquatischen Bereich zu erwähnen, welche oftmals erhöhte Konzentrationen an Quecksilber, Cadmium und Blei enthalten. Dies gilt beispielsweise für Schellfisch oder andere „Problemfische“, welche am Ende der Nahrungskette stehen, ein hohes Alter erreichen oder in kritischen Bereichen beheimatet sind.^[89, 97] Als kritisch einzustufen gelten hierbei Gebiete, welche besonders nah zu industriellen und kommunalen Punktquellen gelegen sind, so dass Flüsse abschnittsweise unterschiedlich stark betroffen sein können; hinzu kommen schwer abschätzbare diffuse Emissionen.^[98, 99] Der Großteil der Schwermetalle gelangt aus dem industriellen, landwirtschaftlichen und häuslichen Bereich in fester, kolloidaler oder gelöster Form über die Fließgewässer in die Weltmeere, so dass auch in diesen kritische Schwermetallmengen auftreten können.^[99] Anzumerken ist dabei, dass die Metallbelastung europäischer Seen durch Zuflüsse und atmosphärische Deposition um 1-2 Größenordnungen höher ist als die der Ozeane.^[100]

Hohe Schwermetallinkorporationen (v. a. nicht-essentieller Metalle) können schwerwiegende Folgen für den jeweiligen Organismus nach sich ziehen. Da die Wirkungen konzentrationsabhängig sind, werden Grenzwerte, sog. Schwellenkonzentrationen, ermittelt, unterhalb derer, nach aktuellem Wissensstand, schädliche Wirkungen auf den Zielorganismus ausgeschlossen werden können. So spricht man in der Ökotoxikologie von der „predicted no effect concentration“, kurz PNEC. In der Humantoxikologie wird hierzu ein auf der Basis von Tierversuchen ermittelter Wert verwendet, die sogenannte NOAL-Konzentration entsprechend dem „no observed adverse effect level“. Aus dieser abgeleiteten Schwellenkonzentration, bei welcher kein toxischer Effekt zu beobachten ist, werden wiederum „tolerierbare täglich resorbierte Körperdosen“ (TRD) berechnet.^[85]

Über diese Grenzwerte hinaus treten Veränderungen beim jeweiligen Organismus auf, welche oftmals im Anfangsstadium bzw. bei geringfügigen Abweichungen vom physiologischen

Normalzustand zunächst kaum ersichtlich sind. So kommt es bei schwermetallbelasteten Pflanzen bereits zu Veränderungen, welche der Ausbildung sichtbarer Symptome vorausgehen. Ein Fortdauern der latenten Schwermetalltoxizität kann zu von Ertragseinbußen begleiteten Schädigungen führen, wie beispielsweise der Inhibierung der Kalium- und Phosphoraufnahme, sowie des Nährstofftransports.

In Bezug auf die Toxizität für Tiere und Menschen muss zwischen der akuten und der chronischen Schwermetallaufnahme unterschieden werden. So versteht man unter einer akuten Giftigkeit die Wirkung, welche durch eine ein- oder gegebenenfalls auch mehrmalig innerhalb eines kurzen Zeitraums (einige Stunden bis Tage) aufgenommene, hohe Dosis ausgelöst wird. Chronische Toxizitäten hingegen sind das Resultat der wiederholten Inkorporation geringer, nicht akut toxischer Schwermetallmengen über einen größeren Zeitraum (Monate/Jahre) hinweg. Hierbei kommt es durch die Akkumulation der Substanzen zu irreversiblen Effekten und Gesundheitsschäden.^[85] Der Aspekt der chronischen Toxizität ist vor allem im Zusammenhang mit schwermetallhaltigen Düngern und der langfristigen Aufnahme geringer Dosen dieser Metalle über die pflanzliche Nahrung interessant.^[85]

Generell treten beim Menschen durch eine chronische Schwermetallaufnahme über die Nahrung und das Trinkwasser Funktionsstörungen des Magen-Darm-Traktes auf.^[85] Durch eine gehemmte Ausscheidung der giftigen Stoffe über Leber, Nieren und Darm kommt zu einer Ablagerung bzw. Ansammlung dieser. In den resultierenden Depots, welche u. a. im zentralen Nervensystem, in den Knochen, in der Leber oder den Nieren auftreten, werden durch die Schwermetalle die Enzymaktivitäten gehemmt und u. U. Organschäden hervorgerufen.^[97]

Die Auswirkungen und Folgen sind neben dem Umfang und Art der Aufnahme im Allgemeinen auch vom Element selbst abhängig (vgl. Tabelle 3). Durch eine chronische Arsenvergiftung können beispielsweise Gesundheitsstörungen, wie Anämie, Haut-, Lungen- oder Nierenkarzinome, sowie Schwangerschaftserkrankungen, -komplikationen, Missbildungen, Früh- und Totgeburten auftreten.^[3, 85, 101] Weitere chronische, durch Arsen hervorgerufene Schäden im menschlichen Organismus können Funktionsstörungen der Leber und des blutbildenden Systems, Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems, sowie Defekte des zentralen und peripheren Nervensystems sein.^[85]

Ähnliche Schädigungen können die Folge von Bleiintoxizitäten sein, die beispielsweise durch kontaminiertes Trinkwasser aus Bleirohren, wie sie oftmals in Altbauten zu finden sind, auftreten können. Die Bleikonzentration im Trinkwasser ist dabei vom Zustand der Rohre und ggf. vorhandenen Deckschichten, von der Verweilzeit des Wassers in den Rohren (je nach Entnahmemenge, Leitungslänge etc.) und der Wasserbeschaffenheit abhängig.^[85, 97, 102] Neben den bereits genannten Gesundheitsrisiken können Blei und seine Verbindungen im Kör-

per zu Nierenfunktionsstörungen führen; in sehr hohen oralen Dosen erwies sich Blei im Tierversuch zudem als karzinogen.^[101] Bei Kindern mit Bleibelastung wurden des Weiteren Verhaltensstörungen oder auch Aufmerksamkeitsdefizite festgestellt.^[97]

Tabelle 3: Mögliche Krankheitserscheinungen infolge der Inkorporation unterschiedlicher Schwermetalle.^[nach 85]

| Chronische Gesundheitsschäden beim Menschen | Auslösende Elemente |
|--|----------------------------|
| Leberfunktionsstörungen | As, Bi, Cr, Cu, Fe, Mn, Sb |
| Nierenfunktionsstörungen | Au, Cd, Hg, Pb, U |
| Störungen des blutbildenden Systems | As, Pb |
| Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems | As, Bi, Pb |
| Schäden des zentralen/peripheren Nervensystems | As, Hg, Mn, Pb, Tl |
| Mutagenität | As, Cr, Hg |
| Kanzerogenität | As, Cd, Cr, Ni, U |

Betrachtet man die Wirkungen des Schwermetalls Cadmium auf den Menschen, so umfassen diese u. a. die Beeinträchtigung der DNA-Synthese, die Beeinflussung der Fertilität und auch Krebserkrankungen. Des Weiteren wird es in Leber und Nieren an ein Enzym gebunden, welches ebenso Zink, Quecksilber, Silber, Zinn und Kupfer bindet, woraus Funktionsstörungen resultieren.^[97]

Die Schädigungen, die durch die Aufnahme des chemo- und radiotoxischen Schwermetalls Uran auftreten, sind ebenfalls schwerwiegend, wobei (im Gegensatz zu den meisten Radionukliden der Uran-Reihe) die chemischen Einflüsse des Urans die strahlungsbedingten Folgen in Bezug auf die menschliche Gesundheit übersteigen.^[87, 103] So beeinflusst es bereits in geringsten Mengen den normalen Ablauf der Stoffwechselprozesse. In Form des Uranylions (UO_2^{2+}) ist es befähigt sich an körpereigene Proteine anzulagern und wird im menschlichen Organismus über das Blut transportiert.^[7] In entsprechenden Untersuchungen konnte, in Konsequenz der chemischen Wirkung von Uranverbindungen bzw. von Uranylacetat auf Säugetierzellen, die Ausbildung kovalenter Uran-DNA-Addukte und das Auftreten von DNA-Strangbrüchen festgestellt werden. Da zum Zwecke der Maskierung der radiologischen Einflüsse des Urans auf die Zellen mit angereichertem Material gearbeitet wurde, wurde für das letztgenannte Phänomen ein chemischer Mechanismus vorgeschlagen. Durch lösliche Uranverbindungen kann es zudem zu weiteren zellulären und genetischen Schädigungen von Säugetierzellen kommen, wie Zelltod oder Chromosomanomalien.^[103]

Zwecks Abschätzung des Gefährdungspotentials und der Beschreibung der Wirkungsweise von Schwermetallen auf den menschlichen Körper gilt es auch stets den betroffenen Organismus miteinzubeziehen. So muss beispielsweise bei der Aufnahme belasteter Trinkwässer berücksichtigt werden, dass bei stark erhöhten Gehalten bestimmte Risikogruppen besonders gefährdet sind. Hierzu zählen Kleinkinder, Säuglinge, Schwangere oder Personen mit gesteigertem Wasserbedarf, wie Diabetiker und Schwerstarbeiter. Je nach Art der Kontamination gilt es zudem eventuelle berufliche Vorbelastungen von Personen mit einzukalkulieren.^[102]

Angesichts des aus Schwermetallkontaminationen in Boden, Wasser und Luft resultierenden Gefahrenpotentials für Mensch und Umwelt ist der Wunsch nach einer effektiven und wenn möglich natürlichen, flexiblen und kostengünstigen Möglichkeit zur Entfernung der Substanzen augenscheinlich.

Eine Option hierzu bietet die sog. Phytosanierung oder auch Phytoremediation auf der Basis existierender Pflanzenspezies. Dabei handelt es sich um eine kostengünstige und *in situ* anwendbare Technik zur Aufreinigung von Bereichen, welche mit toxischen Metallen oder organischen Verunreinigungen kontaminiert sind. Bei dieser Methode muss beachtet werden, dass die zugehörigen Technologien individuell und entsprechend Verschmutzungsgrad, Größe und Volumen des kontaminierten Areals angepasst werden müssen.^[86] So müssen z. B. stets, je nach Art der Verschmutzung, Vergleiche hinsichtlich der Metallakkumulationskapazitäten unterschiedlicher Pflanzenarten angestellt werden.^[9, 86] Beschränkungen in der Anwendbarkeit resultieren daraus, dass nur Verschmutzungen im moderaten Bereich beseitigt werden können, größere Schadstoffmengen können zum Absterben der Pflanzen führen.^[86] Berücksichtigt werden muss auch das Entsorgungsproblem, welches mit großen Mengen an kontaminiertem Biomaterial einhergeht.

Eine weitere Option zur Beseitigung von Schwermetallkontaminationen (v. a. in Bezug auf verunreinigte Gewässer) liegt in der Verwendung von Polysacchariden als Bestandteil mikrobieller EPS (vgl. Abschnitt 2.1). Die meist anionischen Polymere, wie Hyaluronsäure, Xanthan und Alginat, zeigen die Fähigkeit mehrwertige Metallionen, wie Blei, Cadmium oder Kupferionen, binden zu können und schmälern als Ergebnis die Konzentration der schädlichen Stoffe im umgebenden System. Die Verwendung von Biofilmen als Polysaccharidquelle ist mit dem Vorteil verbunden, dass diese Filme einen gewissen Widerstand gegenüber äußeren Einflüssen und einen bestimmten Grad an Oberflächenhaftung aufweisen. Hierdurch wird ihre Anwendung sogar unter extremen Bedingungen, wie in Reaktoren mit starken Strömungen oder rauen Bedingungen, ermöglicht. Auch hier gibt es Einschränkungen zu berücksichtigen. So stellen Polysaccharide lediglich eine der zahlreichen Komponenten der EPS-Matrix dar, wobei jedem einzelnen Bestandteil ein Spezialeffekt zuzuordnen ist, ein

Aspekt, welcher die Kontrolle oder auch die Manipulation des Reinigungsprozesses erschwert.

Neben dem Ansatz der Beseitigung vorhandener und zukünftiger Schwermetallkontaminationen sollte jedoch vor allem die Vermeidung entsprechender Emissionen und ein Handeln im Sinne nachhaltiger Entwicklung im Vordergrund des menschlichen Denkens stehen.^[85]

3 Methoden

3.1 Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Das Analyseverfahren der Rasterkraftmikroskopie (atomic force microscopy, AFM) ist eine Standardmethode zur Oberflächencharakterisierung und wurde im Jahre 1986 von G. Binnig, C. F. Quate und C. Gerber entwickelt.^[104, 105] Diese Methode ist, ebenso wie die Rastertunnelmikroskopie (scanning tunneling microscopy, STM), der sogenannten Rastersondenmikroskopie (scanning probe microscopy, SPM) zuzuordnen.^[106] Gemeinsam ist den unter diesem Oberbegriff zusammengefassten Analysemethoden, dass ihr Messprinzip auf einer feinen Messsonde basiert, welche lokal mit der zu betrachtenden Probe wechselwirkt und deren Oberfläche zeilenweise abtastet.^[107] Die einzelnen SPM-Techniken werden in der Regel nach der Art der gemessenen Wechselwirkungen benannt. Bei den Messmethoden gilt, dass je feiner die verwendete Sonde und je lokalisierter die zu erfassenden Wechselwirkungen, umso höher ist die finale Auflösung des Gerätes.^[106] Somit bietet die Rasterkraftmikroskopie unter geeigneten Bedingungen sogar die Möglichkeit, Abbildungen mit einer Auflösung im atomaren Bereich zu erzielen.

Die von dem jeweiligen Rastersondenmikroskop aufgenommenen Daten werden als Funktion des Ortes detektiert, in einen Farbwert übertragen und schließlich in einem Bild zusammengefasst. Der Typ des resultierenden Bildes und die Probeneigenschaften, welche sich in diesem widerspiegeln, sind dabei von den Wechselwirkungen zwischen Sonde und Analyt abhängig.^[106] Einen der interessantesten Aspekte stellt die Probenhöheninformation bzw. Topographie dar, auf deren Grundlage ein dreidimensionales Bild der Probe erzeugt werden kann.^[108] Zudem lassen sich, je nach Messsystem, weitere Charakteristika der Probenoberfläche aufzeigen, die beispielsweise mechanischer, elektrostatischer, optischer oder magnetischer Natur sein können.^[106]

Die Rasterkraftmikroskopie beruht auf der Erfassung von Kraftwechselwirkungen zwischen Spitze und der Probenoberfläche. Bei der verwandten Rastertunnelmikroskopie, bei welcher der Tunnelstrom zwischen Messsonde und Analyt registriert wird, ist es notwendig, dass die zu untersuchende Probe eine elektrische Leitfähigkeit aufweist, weshalb ihre Anwendung auf das Abbilden der Oberflächen von Metallen, Halbleitern und Supraleitern beschränkt ist.^[105, 109] Die Rasterkraftmikroskopie erfordert diese Leitfähigkeit ebenso wenig wie eine vorhergehende Beschichtung oder anderweitige Vorbehandlung, weshalb sie sich besonders für Anwendungen in der Biotechnologie und der Biologie eignet.^[106] Zudem bietet die AFM die Möglichkeit lebende Zellen abzubilden, da unter physiologischen Bedingungen gemes-

sen werden kann. Hierzu zählt beispielsweise das Arbeiten bei bestimmten Temperaturen bzw. in Flüssigkeiten, wie physiologischen Puffern oder anderen Medien.

Das Messprinzip der Rasterkraftmikroskopie basiert auf einer an der Unterseite eines flexiblen Federbalkens (Cantilever) befindlichen Spitze, welche an die Probenoberfläche herangeführt wird und diese anschließend zeilenweise abrastert.^[107] Hierbei werden die lokal wirkenden attraktiven oder repulsiven Kräfte zwischen Spitze und Probe in eine Auslenkung des Cantilevers übertragen.^[106]

Generell besteht bei der rasterkraftmikroskopischen Messtechnik die Option während des Abrasterns die zu untersuchende Probe oder aber den Cantilever selbst zu bewegen, wobei die Positionsänderung mit Hilfe geeigneter Piezoelemente realisiert wird, die sich, je nach anliegender Spannung, ausdehnen oder zusammenziehen.^[110] Die auf statischer Probe und mobiler Sonde basierende Messtechnik, welche dem hier verwendeten Gerät zu Grunde liegt, bietet den Vorteil, dass nur eine vergleichsweise kleine Masse bewegt werden muss, so dass höhere Scangeschwindigkeiten erzielt werden können.

Die schematische Darstellung der Messanordnung eines Rasterkraftmikroskops ist Abbildung 23 zu entnehmen.

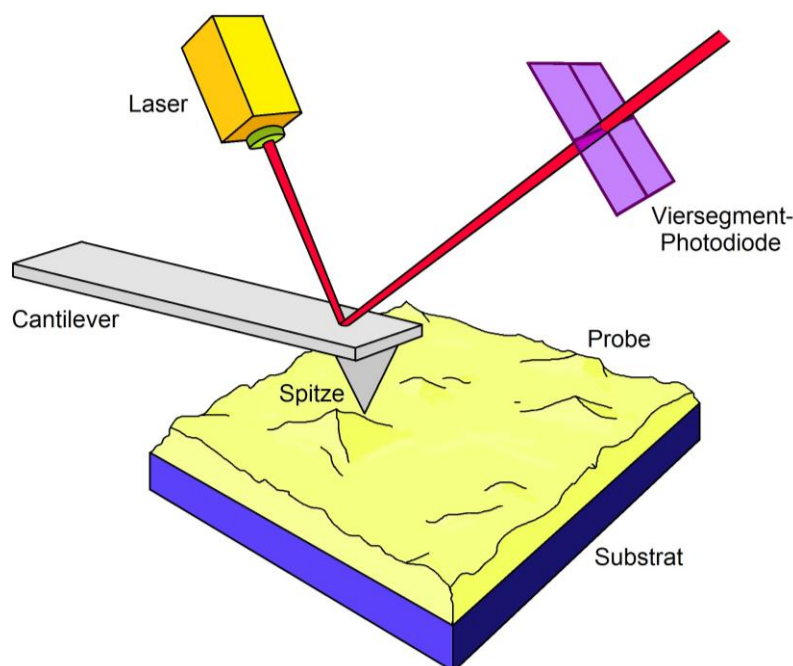


Abbildung 23: Schematische Darstellung der Messanordnung eines Rasterkraftmikroskops.

Die Auslenkung des Federbalkens während des Messprozesses wird mit Hilfe eines auf einem Laser basierenden Detektionssystems erfasst und in ein elektrisches Signal konver-

tiert.^[106] Hierzu wird auf die Oberseite des Cantilevers, der in der Regel aus Silizium (Si) oder Siliziumnitrid (Si_3N_4) besteht, ein Laserstrahl gerichtet, der von diesem reflektiert wird.^[108] Anschließend fällt der zurückgeworfene Strahl auf eine positionssensitive Viersegment-Photodiode. Diese vier Sektoren der Diode ermöglichen es, nicht nur die vertikale Auslenkung zu ermitteln aus der sich das Höhenprofil ergibt, sondern auch die laterale Auslenkung bzw. Torsion des Cantilevers zu bestimmen (Abbildung 24).

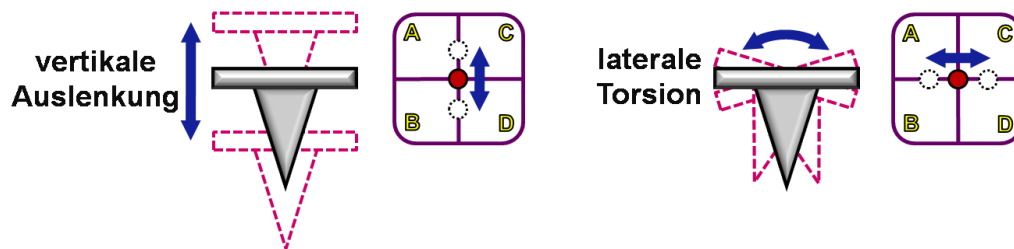


Abbildung 24: Schematische Darstellung der Auslenkungsmodi eines Cantilevers, zugeordnet ist die Verschiebung des reflektierten Laserspots auf dem Vier-Quadranten-Photodetektor.^[nach 105]

Neben dem zugehörigen Höhenbild, welches aus den Spannungswerten der positionskorrigierenden Piezoelemente rekonstruiert wird, erhält man zudem das sog. Auslenkungs- oder auch Errorsignal-Bild. Dieses Bild beinhaltet wiederum Informationen über den nicht korrigierten Teil der Cantileverauslenkung, welcher aus einer limitierten/vordefinierten Nachregelgeschwindigkeit des Systems resultiert.^[111, 112] Das Errorsignal wird häufig zusammen mit dem Höhenbild abgebildet, um eine umfassende Probendarstellung sicher zu stellen (Abb. 25 a) und b)). Zusätzliches Wissen über Materialeigenschaften, wie Härte oder Elastizität, können in Form eines sogenannten Phasen-Bildes erhalten werden. Änderungen dieser Charakteristika führen zu Phasenverschiebungen der Cantileveroszillation, welche ebenfalls in ortsabhängigen Farbwerten dargestellt werden können.^[113] So weisen z. B. hellere Bereiche eines solchen Bildes eine geringere Härte auf als dunklere (Abb. 25 c)).

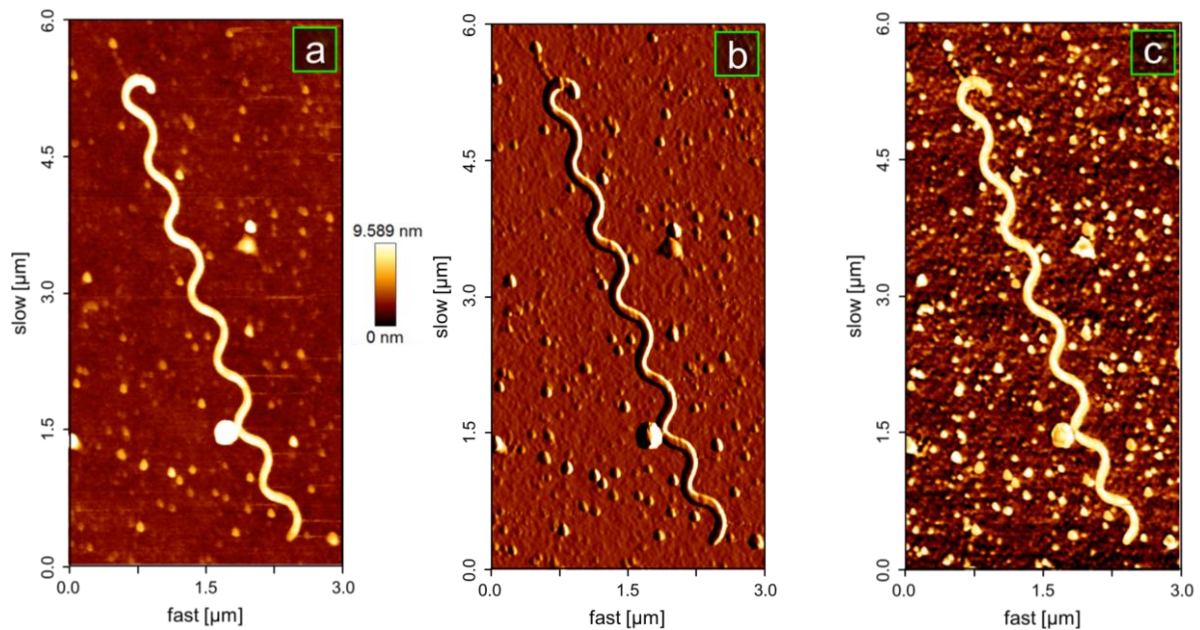


Abbildung 25: Beispielhafte Darstellung der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten AFM-Bildtypen: a) Höhen-, b) Errorsignal- und c) Phasen-Bild.

Der Cantilever selbst weist generell nur eine Länge von ca. 100 μm auf und ist zur besseren Handhabung an einem Chip angebracht. Am Ende des Federbalkens befindet sich die Messspitze, welche typischerweise einige Mikrometer lang ist und einen Spitzenradius von etwa 5 nm bis 15 nm aufweist.^[106] Die Spitze kann beispielsweise pyramidal oder kegelförmig sein (Abb. 26 a) und b)). Die Spitzenform, die in dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimenten verwendet wurde, ist in Abbildung 26 c) dargestellt.

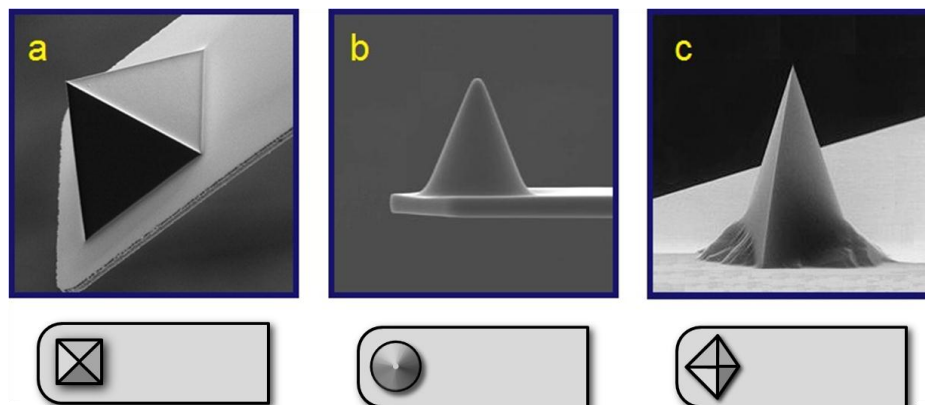


Abbildung 26: Verschiedene AFM-Spitzenformen, a) pyramidal^[114], b) kegelförmig^[115], c) polygon-pyramidal.^[116]

Radius und Winkel des Spitzenendes sind bestimmende Faktoren bei der Abbildungsqualität.^[106] So kann die Spitzenform enorme Auswirkungen auf die resultierenden Darstellungen der Probenoberfläche haben. Das Abbild einer topographischen Eigenschaft der Probe ist in

gewisser Weise auch immer eine Wiedergabe der Spitzenform respektive einer Kombination aus beiden.^[106] Aus diesem Grund sind reproduzierbare Sonden von Vorteil, da eine definierte Spitzengestalt eine bessere Interpretation der rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen ermöglicht und die Identifikation ersichtlicher Abweichungen des erhaltenen Bildes von der wahren Topographie erleichtert. Abweichungen dieser Art werden als Artefakte bezeichnet. So werden scharfe Kanten oft nicht korrekt wiedergegeben oder Vertiefungen nicht vollständig erfasst, wie in Abbildung 27 schematisch dargestellt ist. Kleine Probeneigenschaften, wie beispielsweise die Dimensionen von abzubildenden Polymerketten, erscheinen verbreitert.

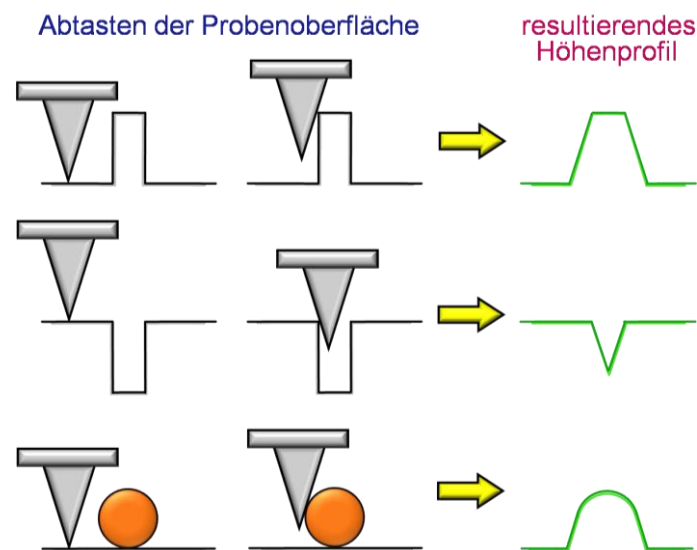


Abbildung 27: Schematische Darstellung verschiedener, aus den Spitzendimensionen bzw. der Messmethode resultierender Artefakte.

Artefakte können ebenso das Resultat beschädigter oder kontaminierter AFM-Spitzen sein. So können beschädigte Messsonden mehrere Endpunkte aufweisen, von denen jeder zur Abbildung der Oberfläche beiträgt, was durch das Auftreten von Dopplungen oder Schatten gekennzeichnet ist.

Auch die Art des verwendeten Betriebsmodus hat einen Einfluss auf die resultierende Abbildungsqualität, wobei je nach Probestyp und Abbildungsansprüchen zwischen dem Contact-, dem Non-Contact- und dem Intermittent-Contact-Mode gewählt werden kann.

Im sog. Contact-Mode (Abb. 28) befindet sich die AFM-Spitze in ständigem Kontakt mit der Probenoberfläche. Man unterscheidet hierbei wiederum zwischen Constant-Force- und Constant-Height-Mode. Im Constant-Force-Mode wird die Cantileverhöhe entsprechend der auf den Federbalken wirkenden Kraft abgeglichen, so dass diese einen stets konstanten Wert aufweist. Im Constant-Height-Mode hingegen wird der Cantilever mit konstanter Höhe über die Oberfläche gelenkt.

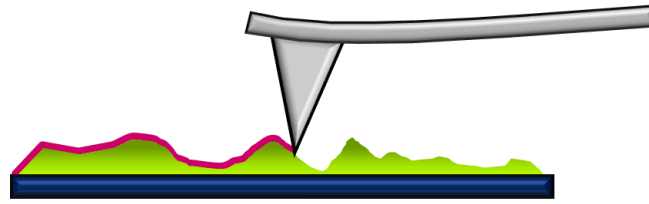


Abbildung 28: Schematische Darstellung des Contact-Mode.^[nach 106]

In diesem Messmodus kann es auf Grund der hohen lateralen Kräfte beim Abrastern zu Beschädigungen der Probe kommen, auch ein Verschieben von schwach adsorbierten Materialien kann hier nicht ausgeschlossen werden, so dass diese Technik nur für relativ robuste Proben geeignet ist.^[109]

Beim Non-Contact-Mode (Abbildung 29) wird der Cantilever nahe seiner Resonanzfrequenz zum Schwingen angeregt. Hierbei oszilliert er nahe der Probenoberfläche, berührt diese allerdings nicht. Die Abtastung der Oberfläche erfolgt durch Registrierung der Wechselwirkungen zwischen Spitze und Probe, welche sich in einer Änderung der Schwingungsfrequenz des Cantilevers äußern. In Ermangelung von Berührungen zwischen Spitze und Probe treten keine Beschädigungen der Probenoberfläche auf, so dass sich dieser Messtyp auch für mechanisch empfindliche Materialien eignet.^[106]

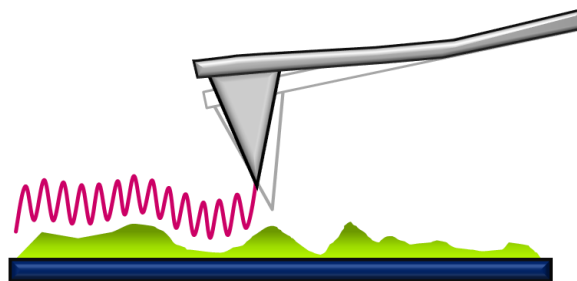


Abbildung 29: Schematische Darstellung des Non-Contact-Mode.^[nach 106]

Der in dieser Arbeit verwendete Intermittent-Contact-Mode (Abbildung 30) stellt eine Kombination der beiden vorhergehenden Betriebsmodi dar und eignet sich relativ gut für empfindlichere Proben. Er zeichnet sich dadurch aus, dass der Cantilever mit einer großen Amplitude nahe seiner Resonanzfrequenz oszilliert und so weit an die Oberfläche angenähert wird, dass es zum zyklischen Kontakt zwischen Spitze und Probe kommt. Dieser wiederholte Kontakt führt zu einer Reduzierung der Oszillationsamplitude.

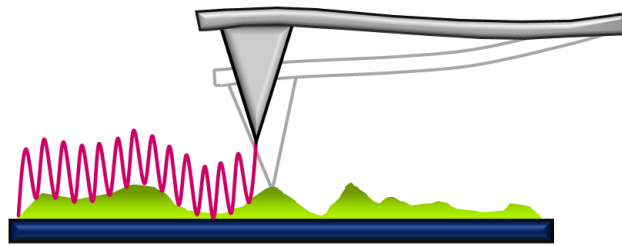


Abbildung 30: Schematische Darstellung des Intermittent-Contact-Mode.^[nach 106]

Die grundsätzlich verschiedenen Abbildungsmodi können ebenso im Hinblick auf die auftretende Kraft, welche vom Abstand zwischen Probe und Spitze abhängig ist, betrachtet werden.^[106] So können die verschiedenen Verfahren mit unterschiedlichen Teilen der zugehörigen Kraft-Abstands-Kurve in Übereinstimmung gebracht werden (Abb. 31).

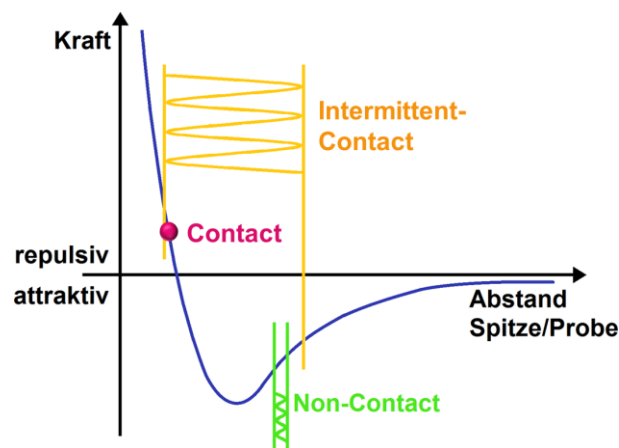


Abbildung 31: Arbeitsbereiche der AFM-Betriebsmodi im Lennard-Jones-Potential.^[106]

Neben der Möglichkeit der Oberflächenabbildung bietet die Rasterkraftmikroskopie zudem die Option der Probenanalyse mittels Kraftspektroskopie. Hierbei werden die Kräfte, die auf die vertikal abgesenkte und anschließend zur Ausgangsposition zurückgefahrne Messsonde wirken, in Abhängigkeit vom Abstand zur Probenoberfläche bestimmt. Der Anwendungsbereich dieser Technik ist dabei weitreichend und schließt z. B. die nanomechanische Untersuchung elastischer Eigenschaften bei der Proteinentfaltung ebenso ein, wie die Analyse der Stabilität von Nano- und Mikrokapseln.^[106, 117] Mit Hilfe dieser Methode können verschiedenartigste Oberflächenkräfte, wie beispielsweise hydrophobe Wechselwirkungen, Meniskus-, Coulomb- oder van-der-Waals-Kräfte in Kraft-Abstands-Kurven erfasst werden.^[109]

3.2 Konduktometrische Titration (CT)

Auf Grund des Polyelektrolytcharakters geladener Polysaccharide und der auftretenden Wechselwirkungen dieser mit ein- und mehrwertigen Metallkationen offerieren im Zusammenhang dieser Arbeit Leitfähigkeitsmessungen, in Form konduktometrischer Titrations, eine sinnvolle Analysetechnik.

Die Basis dieser verwendeten Untersuchungsmethode bildet die Fähigkeit von Elektrolytlösungen elektrischen Strom zu leiten, ein Vorgang der wiederum auf dem Vorhandensein beweglicher Ladungsträger in Form von geladenen Teilchen (Anionen bzw. Kationen) beruht.^[118] So sind viele Salze, aber auch Säuren und Basen, potentielle Elektrolyte. Betrachtet man beispielsweise wässrige Lösungen entsprechender Verbindungen, so findet man dort einen Zerfall der Moleküle in anionische und kationische Teilchen; sie dissoziieren.^[119]

Die Notwendigkeit der Beweglichkeit der Ionen in der umgebenden Phase liegt darin begründet, dass im Falle der Ionenleitung der Stromfluss mit einem Stofftransport einhergeht.^[118] Die Migration der (von einer Solvathülle umgebenen) Ionen im elektrischen Feld ist eine Folgeerscheinung der auf sie wirkenden Kraft, welche wiederum aus den elektrostatischen Wechselwirkungen auf Grund der angelegten Potentialdifferenz zwischen den eintauchenden Elektroden resultiert.^[110] Dies stellt einen Vorgang dar, welcher die Wanderung von Anionen zur positiv geladenen Anode bzw. der Kationen zur negativ geladenen Kathode umfasst. Hierbei steht die so transportierte Stoffmenge n_s in direktem Zusammenhang mit der Menge der Elektrizität Q (Einheit: Coulomb, [C]), ein Verhältnis, welches durch das Faradaysche Gesetz beschrieben wird (Gleichung 1).^[120]

$$Q = n_s \cdot z \cdot F \quad (1)$$

n_s = transportierte Stoffmenge

z = Ionenwertigkeit

F = Faradaykonstante, 96484.56 C/mol^[121]

Der Zusammenhang zwischen der Ladungsmenge dQ , welche in einer gewissen Zeiteinheit dt infolge eines angelegten Stroms der Stärke I (Einheit: Ampere, [A]) durch eine bestimmte Querschnittsfläche hindurchfließt, ist über Gleichung 2 gegeben.^[118]

$$I = \frac{dQ}{dt} \quad (2)$$

Der elektrische Widerstand R (Einheit: Ohm, $[\Omega]$) stellt im Hinblick auf die Untersuchung der Ionenbeweglichkeit in Lösung das zentrale, zu messende Attribut dar, dessen Kehrwert zudem den sog. Leitwert G (Einheit: Siemens, $[1/\Omega] = [S]$) widerspiegelt (Gleichung 3).^[110]

$$R = \frac{1}{G} \quad (3)$$

Dieser Widerstand nimmt mit steigendem Querschnitt q der Elektroden ab, mit Vergrößerung des Abstandes a selbiger hingegen zu, wie in Gleichung 4 verdeutlicht.^[119]

$$R = \rho \cdot \frac{a}{q} \quad \text{bzw.} \quad R = \frac{1}{\kappa} \cdot \frac{a}{q} \quad (4)$$

ρ = spezifischer Widerstand der Elektrolytlösung bezogen auf 1cm^3 [m/S]

κ = spezifische Leitfähigkeit [S/m]

Hierbei ist κ die spezifische Leitfähigkeit, auch Konduktivität genannt, deren Wert als Indiz dafür genutzt werden kann, wie gut eine Flüssigkeit den elektrischen Strom leitet. Auf der Basis der obigen Gleichung kann, im Falle eines bekannten Verhältnisses von Abstandslänge zur Oberfläche der verwendeten Elektroden, durch Messung des elektrischen Widerstandes einer zu untersuchenden Lösung, die Berechnung der spezifischen Leitfähigkeit erfolgen.^[118] Der in Gleichung 4 enthaltene Quotient a/q wird Zellkonstante genannt und in der Regel experimentell ermittelt. Eine Möglichkeit hierzu bietet z. B. der Abgleich mit der Soll-Leitfähigkeit einer Eichlösung. Eine 0.01 molare Kaliumchlorid-Lösung ist hier eine gängige Option.^[119]

Da die Leitfähigkeit einer Elektrolytlösung, wie bereits erwähnt, von der Ionenanzahl in selbiger abhängt, wird anstelle der spezifischen Leitfähigkeit oftmals die zugehörige molare Größe Λ_m verwendet, welche entsprechend Gleichung 5 definiert ist.^[110]

$$\Lambda_m = \frac{\kappa}{c} \quad (5)$$

Λ_m = molare Leitfähigkeit [Sm^2/mol]

c = molare Konzentration des Elektrolyten

Experimentell zeigt sich, dass diese Größe eine Abhängigkeit von der Konzentration aufweist, ein Aspekt, der auf unterschiedliche Gründe zurückgeführt werden kann. Eine Ursache stellen mögliche starke Wechselwirkungserscheinungen der Ionen untereinander dar, so dass eine Proportionalität zwischen Ionenanzahl und Lösungsleitfähigkeit nicht mehr unbe-

dingt gegeben ist. Ein weiterer möglicher Grund liegt darin, dass die Zahl der geladenen Teilchen, in Abhängigkeit von der Elektrolytart, nicht zwangsweise der Menge entspricht, welche man auf Grund der Elektrolytkonzentration erwarten würde. Ein Grund hierfür liegt in dem Ausmaß der Dissoziation, welches von unterschiedlichen Aspekten abhängig ist. Einer dieser Punkte ist, dass ein Dissoziationsvorgang umso leichter wird, je stärker der Dipolcharakter des Lösungsmittels ist; so eignen sich Solventien wie Wasser, deren Moleküle ein großes Dipolmoment aufweisen, besonders gut als Lösungsmittel für Substanzen, die Ionenbindungen beinhalten (Ionenkristalle etc.).^[118] Der Umfang des Dissoziationsprozesses kann auch auf die zu lösenden Stoffe selbst und die in ihnen enthaltenen Bindungen zurückgeführt werden. Aus diesen Teilaspekten, welche den Grad des Zerfalls bestimmen, resultiert eine Klassifikation in sog. starke und schwache Elektrolyte.^[110]

Starke Elektrolyte, denen beispielsweise ionische Festkörper (KCl, NaCl usw.) oder auch starke Säuren (wie H_2SO_4 oder HCl) in wässriger Lösung zuzuordnen sind, zeichnen sich dadurch aus, dass sie solvatisiert vollständig dissoziiert, sprich als Ionen vorliegen.^[118] Dem Folge leistend besteht bei diesen eine Proportionalität zwischen der Zahl der Ionen in Lösung und der Elektrolytkonzentration. Nichtsdestotrotz ist die zugehörige molare Leitfähigkeit nicht gänzlich unabhängig von der Konzentration des Elektrolyten, wie u. a. Friedrich Wilhelm Kohlrausch im 19. Jahrhundert nachwies. An Hand adäquater Messungen fand er heraus, dass die molare Leitfähigkeit im Falle gering konzentrierter Lösungen starker Elektrolyte über das von ihm erstellte Quadratwurzelgesetz nach Kohlrausch (Gl. 6) beschrieben werden kann.^[110, 118]

$$\Lambda_m = \Lambda_m^\circ - K_K \sqrt{c} \quad (6)$$

Der in obiger Gleichung involvierte Koeffizient K_K beinhaltet die Abhängigkeit von der Stöchiometrie des Elektrolyten, sprich der Kationen- bzw. Anionenzahl pro Formeleinheit; der konzentrationsabhängige Faktor resultiert wiederum aus den Interaktionen der geladenen Teilchen untereinander und den damit verbundenen Bewegungseinschränkungen, welche mit steigender Konzentration zunehmen. Die Konstante Λ_m° ist die molare Grenzleitfähigkeit, diejenige molare Leitfähigkeit der Substanz bei unendlicher Verdünnung, einem Zustand, in welchem es den Ionen nicht möglich ist miteinander in Wechselwirkung zu treten, gleichzusetzen mit uneingeschränkten Bewegungsmöglichkeiten. Für diese Konstante bewies Kohlrausch zudem, dass ihr Wert durch Aufaddieren der Beiträge der molare Grenzleitfähigkeiten der einzelnen Ionen (λ_+ und λ_-) entsprechend Gleichung 7, dem Gesetz der unabhängigen Ionenwanderung, beschrieben werden kann.^[110, 122]

$$\Lambda_m^\circ = \nu_+ \cdot \lambda_+ + \nu_- \cdot \lambda_- \quad (7)$$

ν_+ = Zahl der Kationen pro Elektrolytformeleinheit

ν_- = Zahl der Anionen pro Elektrolytformeleinheit

Der Leitfähigkeitsbetrag $\lambda_{+/-}$ eines Ions berechnet sich dabei auf der Basis seiner Wertigkeit z , seiner Beweglichkeit μ_B und der Faradaykonstante F (Gl. 8).^[118]

$$\lambda_{+/-} = \mu_B \cdot z \cdot F \quad (8)$$

Ausgehend von Gl. 7 und 8 kann der Wert für Λ_m° eines jeden beliebigen starken Elektrolyten berechnet werden. Tabelle 4 gibt einen Überblick über die Grenzleitfähigkeiten verschiedener Ionen in Wasser (bei einer Temperatur von 298 K).

Tabelle 4: Grenzleitfähigkeiten von Ionen in Wasser bei 298 K.^[110]

| Kation | $\lambda_+ [\text{mS} \cdot \text{m}^2/\text{mol}]$ | Anion | $\lambda_- [\text{mS} \cdot \text{m}^2/\text{mol}]$ |
|------------------|---|--|---|
| Ba ²⁺ | 12.72 | Br ⁻ | 7.81 |
| Ca ²⁺ | 11.90 | CH ₃ CO ₂ ⁻ | 4.09 |
| Cs ⁺ | 7.72 | Cl ⁻ | 7.635 |
| Cu ²⁺ | 10.72 | ClO ₄ ⁻ | 6.73 |
| H ⁺ | 34.96 | CO ₃ ²⁻ | 13.86 |
| K ⁺ | 7.350 | F ⁻ | 5.54 |
| Li ⁺ | 3.87 | [Fe(CN) ₆] ³⁻ | 30.27 |
| Mg ²⁺ | 10.60 | [Fe(CN) ₆] ⁴⁻ | 44.20 |
| Na ⁺ | 5.010 | I ⁻ | 7.68 |
| Rb ⁺ | 7.78 | NO ₃ ⁻ | 7.146 |
| Sr ⁺ | 11.89 | OH ⁻ | 19.91 |
| Zn ²⁺ | 10.56 | SO ₄ ²⁻ | 16.00 |

Betrachtet man starke Elektrolyte bzw. ihre molaren Leitfähigkeiten, so ändern sich diese infolge einer Konzentrationserhöhung nur in geringem Maße (Abb. 32, blaue Kurve). Bei schwachen Elektrolyten, sprich solchen, welche in Lösung nicht vollständig dissoziiert vorliegen, ist diese Konzentrationsabhängigkeit wesentlich prägnanter (Abb. 32, rote Kurve). Bereits im Bereich kleiner Konzentrationen nimmt die molare Leitfähigkeit bei diesen enorm ab, in dem darüber hinausreichenden, mittleren Konzentrationsbereich geht Λ_m sogar bis auf sehr kleine Werte zurück. Zu den schwachen Elektrolyten zählen u. a. schwache Brønsted-Säuren oder auch -Basen, wie Essigsäure oder Ammoniak.

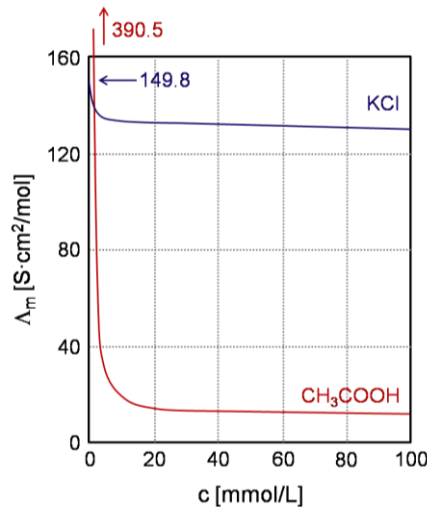


Abbildung 32: Veranschaulichung der Konzentrationsabhängigkeit molarer Leitfähigkeiten an Hand einer wässrigen KCl-Lösung (starker Elektrolyt, blau) und einer wässrigen Essigsäurelösung (schwacher Elektrolyt, rot).^[nach 110]

Als Erläuterung für die signifikantere Abhängigkeit der molaren Leitfähigkeit schwacher Elektrolyte von der Konzentration lässt sich die Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichtes anführen, ein Aspekt, welcher zur Veränderung des sog. Dissoziationsgrades α_{Diss} führen kann; bei schwachen Säuren spricht man in diesem Zusammenhang vom sog. Deprotonierungsgrad.^[110, 118]

Für eine Säure HA der Konzentration c in wässriger Lösung ergibt sich:

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = \alpha_{\text{Diss}} \cdot c \quad (9)$$

$$[\text{A}^-] = \alpha_{\text{Diss}} \cdot c \quad (10)$$

$$[\text{HA}] = (1 - \alpha_{\text{Diss}}) \cdot c \quad (11)$$

Einen vollständigen Zerfall findet man bei unendlicher Verdünnung, so dass unter dieser Voraussetzung die molare Leitfähigkeit der Grenzleitfähigkeit entspricht. Da im Normalfall allerdings nur eine bruchstückhafte Dissoziation vorliegt, lässt sich die tatsächliche molare Leitfähigkeit Λ_m mit Hilfe des Dissoziationsgrades berechnen (Gleichung 12).

$$\Lambda_m = \alpha_{\text{Diss}} \cdot \Lambda_m^\circ \quad \text{bzw.} \quad \alpha_{\text{Diss}} = \frac{\Lambda_m}{\Lambda_m^\circ} \quad (12)$$

Für die Dissoziationskonstante einer schwachen Säure der mit Säurekonstante K_S gilt dabei:

$$\alpha_{\text{Diss}} = \frac{K_s}{2c} \left\{ \left(1 + \frac{4c}{K_s} \right)^{\frac{1}{2}} - 1 \right\} \quad (13)$$

Demzufolge ist es möglich eine Aussage über die Konzentrationsabhängigkeit der molaren Leitfähigkeit zu treffen, wenn K_s bekannt ist.^[110]

Des Weiteren kann auf der Grundlage dieser Aspekte, unter Zuhilfenahme der linearisierten Form des Ostwaldschen Verdünnungsgesetzes (Gl. 14), die molare Grenzleitfähigkeit eines Elektrolyten bestimmt werden. Durch Auftragung von $1/\Lambda_m$ gegen $c \cdot \Lambda_m$ erhält man eine Gerade, deren Ordinatenabschnitt Λ_m° ($c = 0$) und deren Steigung K_s beinhaltet (Abb. 33).^[123]

$$\frac{1}{\Lambda_m} = \frac{1}{\Lambda_m^\circ} + \frac{1}{(\Lambda_m^\circ)^2} \cdot K_s \cdot c \cdot \Lambda_m \quad (14)$$

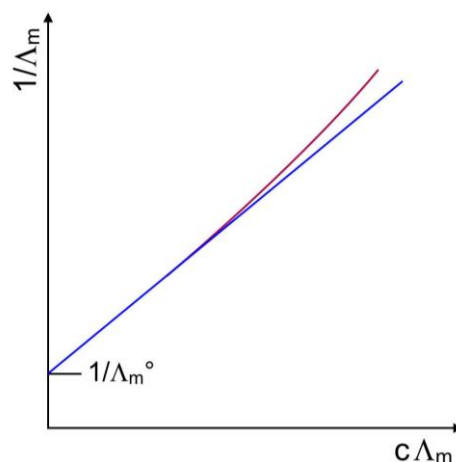


Abbildung 33: Auftragung zur Bestimmung der molaren Grenzleitfähigkeit einer Lösung für $c = 0$ durch Extrapolation.^[nach 110]

All diese Faktoren, wie die Konzentrationsabhängigkeit der Leitfähigkeit, gilt es bei der vielseitig einsetzbaren Methode der Konduktometrie zu berücksichtigen. Zu diesen zahlreichen Verwendungsmöglichkeiten von Leitfähigkeitsmesszellen gehört u. a. die Analyse flüssiger Medien zur Kontrolle ihrer Reinheit. Anwendung findet diese Technik beispielsweise bei der Untersuchung von Lösungsmitteln mit geringer Eigenleitfähigkeit, wie destilliertem Wasser, organischen Lösungsmitteln oder Ölen. Des Weiteren befähigt die Konduktometrie zur Konzentrationsbestimmung von Lösungen bekannter Zusammensetzung; so kann beispielsweise der Salzgehalt einer Meerwasserprobe erfasst werden. Auch thermodynamische Messungen (zum Beispiel zur Bestimmung von Löslichkeiten) sind so umsetzbar. Nicht zuletzt sind reak-

tionskinetische Untersuchungen im Verlauf einer Reaktion, welche den Austausch von Ionen unterschiedlicher Beweglichkeit einschließt, mittels Konduktometrie durchführbar.^[110, 118]

Im Rahmen dieser Arbeit dienen konduktometrische Titrations der Untersuchung des Ionenaustauschprozesses infolge der Komplexbildung zwischen (Natrium-)Alginatmolekülen und mehrfach positiv geladener Ionen. Durch Messung der Leitfähigkeit bzw. ihrer Änderung unter schrittweiser Konzentrationserhöhung der mehrwertigen Kationen sollen Rückschlüsse über die auftretenden Wechselwirkungen und die resultierenden Strukturen gezogen werden.

3.3 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Zum Zweck einer umfassenden Polymercharakterisierung gilt es nicht nur die chemische Zusammensetzung der Makromoleküle zu berücksichtigen, auch Größe, geometrische Form und Masse stellen wichtige Eigenschaften dar.

Das mit der geometrischen Form einhergehende Erscheinungsbild eines Polymermoleküls wird durch unterschiedliche Faktoren bestimmt. Hierzu zählen u. a. Temperaturänderungen sowie mögliche intra- oder intermolekulare Wechselwirkungen zwischen Monomereinheiten einer oder mehrerer Ketten. Interaktionen mit Lösungsmittelmolekülen können ebenso zu Formveränderungen führen, so dass ein Austausch des umgebenden Lösungsmittels in einer abweichenden Gestalt und Größe resultieren kann. In Abhängigkeit von der jeweiligen äußeren Erscheinung kann eine grobe Klassifizierung erfolgen, derer entsprechend zwischen kugel-, scheiben-, stäbchenförmigen bzw. geknäuelten Molekülen unterschieden werden kann.^[124]

Im Bezug zur Masse gilt es zu berücksichtigen, dass die meisten Polymere keine einheitliche Kettenlänge aufweisen, weshalb ihre Molmasse nicht durch einen exakten Wert definiert werden kann. Anstelle einer vollständigen Verteilungsfunktion erfolgt für polydisperse Polymere meist die Angabe durchschnittlicher Molmassen. Zu den gebräuchlichsten Mittelwerten zählen das numerische oder auch Zahlenmittel M_n , das Gewichtsmittel M_w und das sog. Zentrifugemittel M_z , deren Werte mit Hilfe unterschiedlicher Messmethoden bestimmt werden können.^[124-126]

Gleichung 15 beschreibt das numerische Mittel der Molmasse; die Bestimmung dieses Durchschnittswertes kann u. a. mittels Osmometrie erfolgen.

$$M_n = \frac{\sum_i N_i M_i}{\sum_i N_i} = \frac{\sum_i c_i}{\sum_i c_i M_i^{-1}} \quad (15)$$

i = Inkrementindex für alle vorhandenen molekularen Massen

N_i = Anzahl der Teilchen

M_i = Molmasse

c_i = Massenkonzentration der Teilchen mit der Molmasse M_i

Der Gewichtschnitt der Molmasse einer Polymerprobe, welcher unter anderem auf der Basis von Lichtstreuexperimenten berechnet werden kann, ist Gleichung 16 entsprechend definiert.

$$M_w = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i} = \frac{\sum_i c_i M_i}{\sum_i c_i} = \frac{\sum_i m_i M_i}{\sum_i m_i} \quad (16)$$

m_i = Masse

Der beispielsweise mit Hilfe einer Ultrazentrifuge bestimmbare Wert für M_z ergibt sich gemäß Gleichung 17.

$$M_z = \frac{\sum_i N_i M_i^3}{\sum_i N_i M_i^2} = \frac{\sum_i c_i M_i^2}{\sum_i c_i M_i} \quad (17)$$

Betrachtet man die Größenordnungen dieser durchschnittlichen Molmassen, so besteht zwischen ihnen stets die Relation $M_z \geq M_w \geq M_n$. Auf der Basis der Werte für M_w und M_n lässt sich zudem eine weitere wichtige Größe, der Polydispersitätsindex d , berechnen (Gl. 18).

$$d = \frac{M_w}{M_n} \quad (18)$$

Im Einklang mit der zuvor erwähnten Beziehung zwischen den Werten der mittleren Molmassen findet man für polydisperse Polymerproben einen Polydispersitätsindex von $d > 1$, im Falle der Monodispersität ergibt sich ein Wert von eins.^[124]

Die Intention einer vollständigen Charakterisierung der Polymermolmasse und ihrer Verteilung bedarf der Aufteilung der Polymerprobe in entsprechende Fraktionen zur individuellen Analyse. Eine Möglichkeit zu einer solchen Separation bietet die Gelpermeationschromato-

graphie (GPC), welche der Größenausschlusschromatographie (size exclusion chromatography, SEC) zuzuordnen ist.

Bei dieser Methode findet eine Auftrennung der Moleküle auf der Grundlage ihres hydrodynamischen Radius (R_h) respektive Volumens (V_h) statt.^[126] Unter dem sog. hydrodynamischen Radius, welcher auch als Stokes-Radius bezeichnet wird, versteht man den effektiven Radius eines Teilchens in Lösung, welcher die Lösungsmittelmoleküle in der umgebenden Solvathülle mitberücksichtigt, entsprechendes gilt für das hydrodynamische Volumen im Falle nicht-kugelförmiger Partikel.^[110] Da eben dieses Volumen mit der Molmasse korreliert, kann unter geeigneten Bedingungen, sprich entsprechender Kalibration und apparativer Ausrüstung, eine Berechnung dieser erfolgen.

Die essentielle Komponente einer gelpermeationschromatographischen Anlage bildet eine Säule, die eine definiert-poröse Partikelpackung in Form granulierter Gele beinhaltet, die sog. stationäre Phase, an welcher der eigentliche Trennprozess stattfindet (vgl. Abb. 34).^[127, 128] Die Separation beruht darauf, dass die in einer Trägerflüssigkeit, der sog. mobilen Phase, gelösten, die Säule entlang fließenden Probenmoleküle zwischenzeitlich durch das poröse Füllmaterial zurückgehalten werden. Da beispielsweise größere Polymerketten von einem Teil der Poren ausgeschlossen werden, somit weniger Wechselwirkungen zur Festphase zeigen und in einem entsprechend geringeren Ausmaß zurückgehalten werden, eluieren sie schneller von der Säule als kleinere Teilchen, welche die stationäre Phase bevorzugen und demnach langsamere Wanderungsgeschwindigkeiten aufzeigen. Aus diesem Grund ist die Porengröße ausschlaggebend für das Eindringverhalten der Probenmoleküle und für den molekularen Größenbereich, in dem die Separation abläuft.

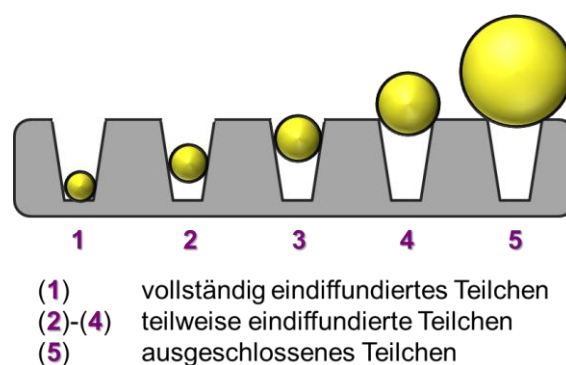


Abbildung 34: Schematische Darstellung zum Poreneindringverhalten unterschiedlich großer Polymerpartikel.^[nach 124]

Falls nötig können demzufolge auch mehrere Säulen unterschiedlicher Porosität hintereinander dazu verwendet werden, um ein bestimmtes Trennproblem zu lösen. Alternativ können auch gemischte Gelsäulen eingesetzt werden.^[128]

Der beschriebene, der SEC zugrundeliegende Retentionsmechanismus ist dahingehend einmalig, da die Verteilung des gelösten Stoffes zwischen den Phasen auf Entropie- anstelle von Enthalpieunterschieden beruht.^[125] Dementsprechend muss die Abwesenheit von Adsorptionsvorgängen zwischen Proben- und Säulenmaterial gewährleistet sein, um eine effektive Trennung erzielen zu können.^[124]

Eine schematische Darstellung des Trennvorgangs ist in Abbildung 35 veranschaulicht (zur Vereinfachung sind hier lediglich zwei Molekülgrößen gewählt).

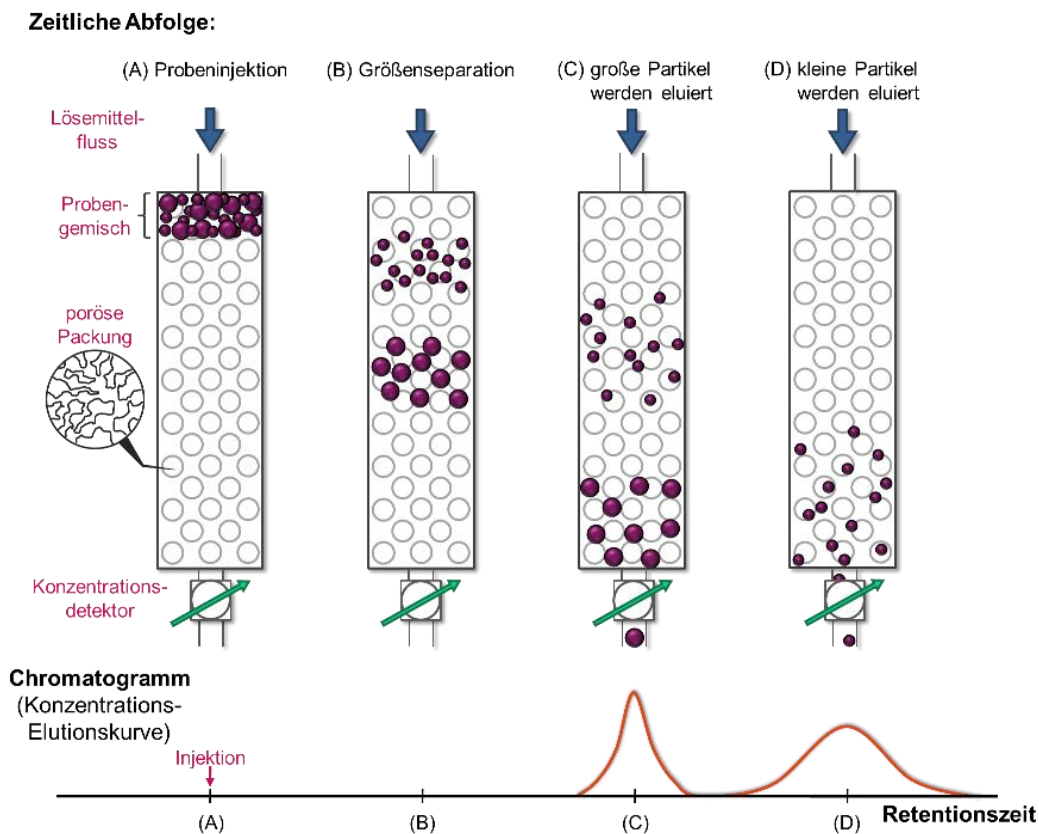


Abbildung 35: Trennprozesse und Elutionsverhalten bei der gelpermeationschromatographischen Untersuchung einer polydispersen Polymerprobe.^[nach 125]

Betrachtet man die Konzentration der Polymerteichen in der stationären im Vergleich zur mobilen Phase, so ergibt sich der sog. Verteilungskoeffizient k_{SEC} , dessen Wert den Grad der Porenzugänglichkeit für eine Polymerkette mit definiertem hydrodynamischen Volumen angibt und sich gemäß Gleichung 19 berechnet.^[124]

$$k_{\text{SEC}} = \frac{c(\text{Polymerteichen in der stationären Phase})}{c(\text{Polymerteichen in der mobilen Phase})} \quad (19)$$

Der Verteilungskoeffizient beschreibt zudem den Zusammenhang zwischen dem Elutionsvolumen V_e , dem Volumen der Poren des Säulenmaterials V_i (inner volume) und dem sog. Zwischenkornvolumen V_o (outer volume) entsprechend Gleichung 20.

$$V_e = V_o + k_{SEC} \cdot V_i \quad (20)$$

In Anbetracht eines gegebenen chromatographischen Systems können demzufolge verschiedene Situationen eintreten. Im Falle großer, einen durch die Porengröße definierten Grenzwert überschreitender, hydrodynamischer Radien ist es den zugehörigen Teilchen nicht mehr möglich in die Poren einzudiffundieren.^[124] Die von den Poren vollständig ausgeschlossenen Polymermoleküle eluieren zuerst und verlassen unaufgetrennt die Säule.^[128] Das Volumen dieser ersten Fraktion entspricht dem Zwischenkornvolumen, welches aus diesem Grund auch als Ausschlussvolumen bezeichnet wird. Die mit dieser Molekülgröße verbundene Polymermasse ist der sog. Ausschlussgrenze zuzuordnen. Für den Verteilungskoeffizienten ergibt sich ein Wert von null, entsprechend Gleichung 20 gilt hier demzufolge $V_e = V_o$. Der gegenteilige Fall besonders kleiner Moleküle, die dazu befähigt sind vollständig in die Poren einzudringen, führt dazu, dass die entsprechenden Teilchen unsepariert als letzte Fraktion gemeinsam mit den Lösungsmittelmolekülen eluieren.^[124, 128] Das Volumen dieser Fraktion, welches die sogenannte Permeationsgrenze charakterisiert, berechnet sich als Summe aus Poren- und Zwischenkornvolumen, so dass nach Gleichung 20 $k_{SEC} = 1$ gilt. Teilchen, deren hydrodynamische Radien zwischen diesen Grenzwerten liegen, können mit Hilfe der SEC separiert werden. Hierbei handelt es sich um den eigentlichen Arbeitsbereich der Größenausschlusschromatographie, den Bereich der selektiven Permeation, in welchem die Trennwirkung der Säulen effektiv genutzt werden kann.^[128] Für den Verteilungskoeffizient ergibt sich in diesem Bereich $0 < k_{SEC} < 1$.^[124] Neben diesen, die Separationsqualität mitbestimmenden Faktoren, sprich der Porenform, -größe sowie deren Verteilung und dem hydrodynamischen Volumen der Probenpartikel, gibt es weitere Aspekte die einen Einfluss auf die Güte der Ergebnisse ausüben.^[125] Hierzu zählen u. a. die Teilchenform, die Eluentenstärke, sowie die Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase, elektrolytische Effekte, eine mögliche Assoziation der Moleküle untereinander oder Temperaturschwankungen. Im Falle von Polymerproben, deren Moleküle sich durch eine mit der Molmasse variierenden Teilchengometrie auszeichnen, kann eine sinnvolle Datenauswertung erschwert werden.^[124] Nicht zuletzt können die am Aufbau der verwendeten Apparatur beteiligten Komponenten die Qualität der Messergebnisse mitbestimmen.

So sind neben einer Säule oder Säulenkolonne, deren Füllmaterial beispielsweise aus Polyacrylamiden, Dextran, Agarose, Silicagel, Styrol-Divinylbenzolgel, porösem Glas oder Aluminiumpartikeln bestehen kann, weitere Bestandteile Basis des apparativen Aufbaus einer

SEC-Anlage (Abb. 36).^[124-126] So wird in der Regel eine Pumpe zur Lösungsmittelförderung verwendet, um den kontinuierlichen Durchfluss der mobilen Phase durch das System sicherzustellen. Zur einfacheren Handhabung dient zudem ein Inline-Entgaser, um in der Flüssigkeit gelöste Gase zu entfernen. Dies wiederum sorgt für ein stabileres Signal und ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis.^[126]

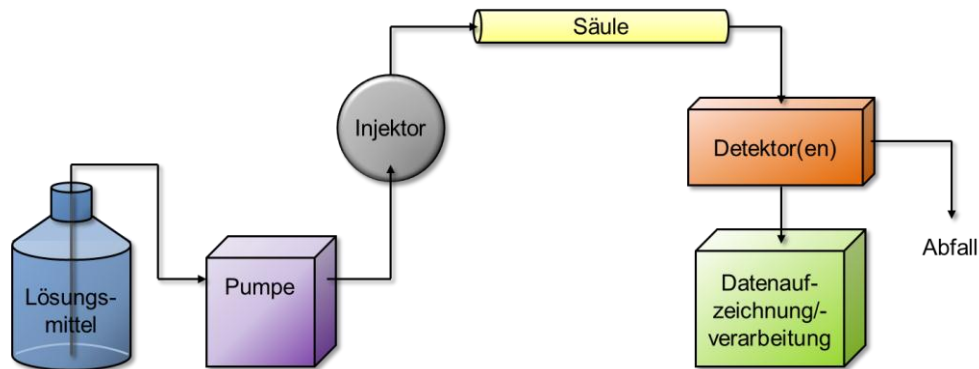


Abbildung 36: Schematischer Aufbau einer gelpermeationschromatographischen Anlage.^[nach 128]

Zur Vereinfachung, Präzisierung und Reproduzierbarkeit der Probeninjektion findet man meist spezielle Aufnahmeventile, mit deren Hilfe die Probenlösung im Überschuss in eine Probenschleife und mittels eines Ventils auf die Trennsäule aufgegeben werden kann.^[124, 125] Ein Beispiel hierfür bildet das in Abbildung 37 dargestellte Sechskanal-Injektionsventil durch dessen Verwendung eine ungleichmäßige Probeneingabe oder Verdünnung der Probenlösung verhindert werden kann.^[128]

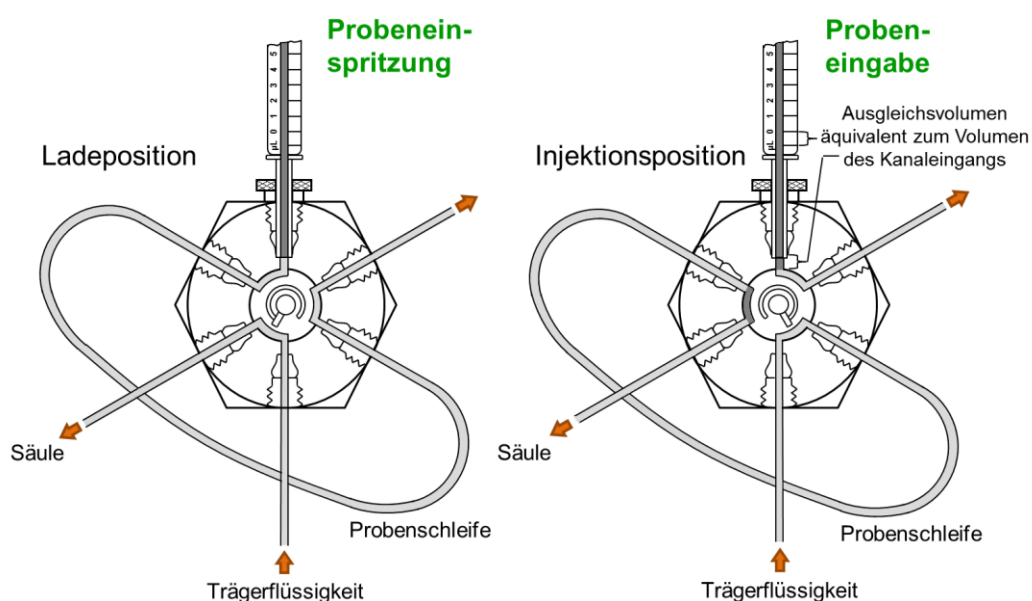


Abbildung 37: Schematische Darstellung eines Sechskanalinjektionsventils.^[nach 125]

Zwecks Analyse der von der GPC-Säule eluierenden Fraktionen schließt sich an diese eine Detektorreihe an, deren Zusammenstellung für die Genauigkeit der Untersuchung und den Gehalt der Ergebnisse ausschlaggebend ist und deren resultierende Daten abschließend mit einer entsprechenden Software ausgewertet werden können.

In Abhängigkeit von der Detektoranzahl und -art können ggf. neben der Molmasse ebenso die Molmassenverteilung (molecular weight distribution, MWD), die Grenzviskosität oder der hydrodynamische Radius R_h bestimmt werden. Zudem kann die Auswertung der erhaltenen Daten u. U. Rückschlüsse über die makromolekulare Struktur, die Molekülkonformation, eventuelle Aggregationen, Verzweigungen, sowie die Copolymer- bzw. Konjugatzusammensetzung ermöglichen.^[126]

Im Hinblick auf potentielle GPC-Detektoren, welche der kontinuierlichen Beobachtung der Eluenten dienen, kann generell zwischen zwei Typen unterschieden werden. Zum einen finden selektive Detektoren Verwendung, welche lediglich gegenüber den Probenkomponenten empfindlich sind, wie beispielsweise UV-Photometer. Zum anderen gibt es generelle Detektoren, welche dazu befähigt sind Änderungen physikalischer Eigenschaften zu registrieren, wie z. B. Brechungsindexdetektoren (RI-Detektor, engl.: refractive index). Diese Option kann sowohl in Bezug auf die Charakteristika der gelösten Komponente, als auch auf die Eigenschaften des Eluenten, welche sich auf Grund der Gegenwart des Gelösten verändern, genutzt werden. Allen Detektorarten ist gemein, dass sie ein Ausgangssignal erzeugen, welches in Relation steht zur Konzentration oder dem Gewicht des zu analysierenden Polymers im Säulenausfluss. Es gilt zu berücksichtigen, dass es keinen Universaldetektor gibt, sei es im Punkt der Anwendbarkeit oder Sensitivität, weshalb meist eine Kombination mehrerer Detektionsverfahren Verwendung findet.^[125] Beachtet werden muss außerdem, dass je nach Detektorwahl unterschiedliche Kalibrier- und Kalkulationsarten genutzt werden müssen.^[126]

Unter Einsatz eines Konzentrationsdetektors, wie z. B. eines Brechungsindex- oder UV/Vis-Detektors, findet eine konventionelle Kalibration ihre Anwendung. Hierbei wird mittels geeigneter, möglichst monodisperser bzw. eng verteilter Standards bekannter Molmasse (wie beispielsweise Proteinen) eine Kalibrationskurve in Form einer Auftragung des Logarithmus der Molmasse ($\lg M_w$) gegen das Retentionsvolumen (V_e) erstellt (Abb. 38). An Hand dieser Kurve können dann die relativen Molmassen und deren Verteilung bestimmt werden. Als nachteilig erweist sich diese Relativmethode vor allem dann, wenn keine der chemischen Zusammensetzung der Probe entsprechenden Standards zur Verfügung stehen und so lediglich Molmassen im Bezug zum gewählten Standard angegeben werden können.^[124, 126]

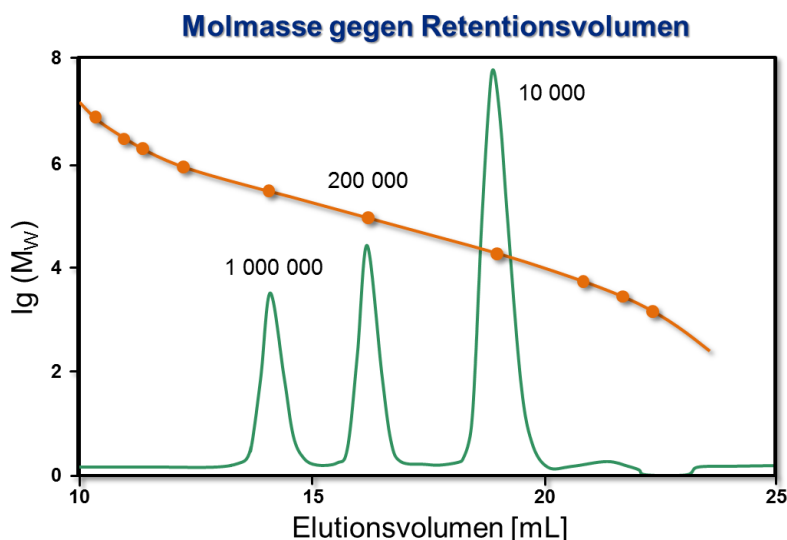


Abbildung 38: Exemplarische Auftragung der logarithmierten Molmasse verschiedener Polymerstandards gegen das Elutionsvolumen zwecks Erstellung einer Kalibrierungskurve zur konventionellen GPC-Kalibrierung.^[nach 126]

Kann apparativ zusätzlich eine Messung der differentiellen Viskosität erfolgen, so ist es möglich anstelle einer konventionellen eine universelle Kalibration durchzuführen, welche eine Beziehung zwischen dem hydrodynamischen Volumen der Moleküle und dem Retentionsvolumen herstellt und so eine Möglichkeit zur Bestimmung der tatsächlichen molaren Masse bietet.^[126, 129] Die Basis dieser universellen Kalibrierung bildet die sog. Mark-Houwink-Gleichung (Gl. 21).^[124] Der Einsatz eines Viskositätsdetektors gekoppelt mit einem Konzentrationsanalogen Detektor (z. B. RI-Detektor) erlaubt es die Grenzviskosität $[\eta]$ (auch intrinsische Viskosität oder Staudinger-Index genannt) zu bestimmen, welche der inversen Dichte der Polymerkette in Lösung entspricht.^[126, 130] Die Grenzviskosität stellt einen wichtigen, empfindlichen strukturellen Parameter dar und ist Bestandteil der bereits erwähnten Mark-Houwink-Gleichung (Gl. 21), welche zur Analyse polymerer Strukturen und deren Veränderungen (z. B. auftretende Verzweigungen) herangezogen werden kann.^[126, 129]

$$[\eta] = K \cdot M_w^\alpha \quad (21)$$

K, α = Mark-Houwink-Parameter

Durch doppellogarithmische Auftragung der intrinsischen Viskosität gegen die molare Masse erhält man demgemäß eine, durch den Mark-Houwink-Exponent α beschriebene, Steigung.^[126] Die resultierenden Werte lassen strukturelle Rückschlüsse zu; so erhält man im Falle fester Kugeln Werte von null, für ein ideales Knäuel ist $\alpha = 0.5$. Ein Mark-Houwink-Exponent von $\alpha = 2$ spricht hingegen für die Gegenwart stäbchenförmiger Moleküle.^[131]

In der modernen Größenausschlusschromatographie findet zum Zwecke einer hohen analytischen Genauigkeit und Akkuratheit meist ein Dreifachdetektionssystem Verwendung. Die zugrundeliegende Gerätekombination basiert dabei, wie auch bei der in dieser Arbeit verwendeten Apparatur, auf einem Lichtstreuendetektor, einem Viskosimeter und einem konzentrationssensitiven Detektor (z. B. einem Differentialrefraktometer).^[126]

Das Hauptziel der Streulichtmessungen liegt in der Molmassenbestimmung; hierzu erfolgt eine Intensitätsmessung des Lichtes, welches von einer polymerhaltigen Lösung seitlich zum einfallenden Primärstrahl gestreut wird.^[124] Die zugehörigen Berechnungen basieren auf der sog. Rayleigh-Gleichung (Gl. 22), derer zufolge sich die Streulichtintensität R bei einem Streuwinkel θ aus der Polymerkonzentration c , der Molmasse M_w und einer optischen Konstante K_R zusammensetzt.^[126]

$$R(\theta)\big|_{\theta \rightarrow 0} \cong K_R \cdot c \cdot M_w \quad (22)$$

Der Gleichung zufolge wäre es zur exakten Bestimmung der Molmasse notwendig die Streulichtintensität bei einem Winkel von 0° aufzuzeichnen. Dies wiederum ist auf Grund der Überlagerung dieses gestreuten Lichts mit dem Primärstrahl nicht möglich, so dass die Messungen bei einem anderen Winkel erfolgen und die Ergebnisse extrapoliert werden müssen.^[124] Mögliche Herangehensweisen bieten LALS- (low angle light scattering), MALS- (multi angle light scattering) oder RALS- (right angle light scattering) Messgeräte.^[126] Das Prinzip von LALS- bzw. Kleinwinkelstreulichtphotometern beruht auf Messungen bei Winkeln unter 10° (meist $5-7^\circ$) als Approximation zur Streulichtintensitätsbestimmung bei 0° . Im Gegensatz hierzu erfolgt die Messung bei einem MALS- oder Vielwinkelstreulichtphotometer bei mehreren, unterschiedlichen Winkeln unter anschließender Extrapolation auf den Nullwinkel durch Auftragung des Streulichtsignals als Funktion des Winkels.^[124, 126] Bei diesem messtechnischen Verfahren gilt es zu berücksichtigen, dass die Kurvenanpassung nicht-linear ist und mit der Qualität dieser die Genauigkeit der geschätzten Molmasse einhergeht. Vor allem im Falle kleiner Moleküle wird bevorzugt die empfindliche Rechtwinkelstreulichtmessung (RALS) angewandt.^[126]

Da, wie bereits erwähnt, zum Zweck einer universellen Kalibration bzw. zur Bestimmung absoluter Molmassen ein konzentrationssensitiver Detektor von Nöten ist, umfasst der Aufbau einer Dreifachdetektions-SEC-Anlage meist (wie auch das in dieser Arbeit verwendete System) ein Differentialrefraktometer. Mit Hilfe dieses Detektors können die Differenzen zwischen den Brechungsindices von Elutionsmittel (n_0) und Eluaten (n) gemessen und so auch geringe Konzentrationsänderungen erkannt werden.^[124] Für die vom Gerät erfasste Spannungsdifferenz ΔU gilt im linearen Arbeitsbereich entsprechend Gleichung 23:

$$\Delta U = K_{\text{DRI}} \cdot (n - n_0) = K_{\text{DRI}} \cdot \Delta n \quad (23)$$

K_{DRI} = Detektorkonstante (abhängig vom Refraktometeraufbau)

Δn = Brechungsindexdifferenz

Hieraus folgt im Falle einer linearen Beziehung zwischen n und der Massenkonzentration c :

$$\Delta U = K_{\text{DRI}} \cdot \left(\frac{\delta n}{\delta c} \right)_\lambda \cdot c \quad (24)$$

$(\delta n / \delta c)_\lambda$ = Brechungsindexinkrement

Auf Basis dieser Gleichung lässt sich bei bekannter Polymerkonzentration das Brechungsindexinkrement berechnen. Analoges gilt im Umkehrschluss zur Berechnung der Massenkonzentration. Dieser Aspekt bildet die Grundlage der Auswertung der Streulichtmessungen und somit der Molmassenbestimmung. Voraussetzung ist hierbei, dass das Brechungsindexinkrement des vermessenen Systems konzentrations- und molmassenunabhängig ist.^[124, 126]

3.4 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Das im Jahre 1946 von F. Bloch und E. M. Purcell entwickelte Verfahren der Kernresonanz- oder auch NMR-Spektroskopie (nuclear magnetic resonance) ist eines der wichtigsten naturwissenschaftlichen Analyseverfahren, welches nicht nur im Bereich der Chemie sondern auch in der Biologie, Physik und Medizin Anwendung findet.^[132-134] Bei dieser spektroskopischen Technik handelt es sich um eine etablierte Methode zur Aufklärung von Molekülstrukturen und zur Untersuchung dynamischer Prozesse.

Die NMR-Spektroskopie basiert auf Resonanz-Wechselwirkungen zwischen elektromagnetischer Strahlung aus dem Radiowellenwellenbereich, d. h. einem hochfrequenten magnetischen Wechselfeld und den Atomkernen der zu untersuchenden Substanz in einem starken äußeren, homogenen Magnetfeld.^[133] Hierzu eignen sich allerdings nur solche Atomkerne, die über ein magnetisches Moment μ verfügen, welches aus Eigenrotation durch den Drehimpuls P resultiert.^[135] Der gequantelte Drehimpuls lässt sich mittels Gleichung 25 berechnen.

$$P = \hbar \cdot \sqrt{I \cdot (I + 1)} = \frac{h}{2\pi} \cdot \sqrt{I \cdot (I + 1)} \quad (25)$$

h = Plancksches Wirkungsquantum, $6.62517 \cdot 10^{-34} \text{ Js}^{[121]}$

\hbar = reduziertes Plancksches Wirkungsquantum, $1.05443 \cdot 10^{-34} \text{ Js}^{[121]}$

I = Drehimpulsquantenzahl bzw. Kernspin

Der Drehimpuls P und das magnetische Moment μ stellen vektorielle Größen dar, welche entsprechend Gleichung 26 über das gyromagnetische Verhältnis γ miteinander verknüpft sind.^[134]

$$\mu = \gamma \cdot P \quad (26)$$

Das gyromagnetische Verhältnis γ stellt hierbei eine für jedes Isotop charakteristische Konstante dar und kann zudem als Maß für die Nachweisempfindlichkeit der verschiedenen Kerne herangezogen werden.^[134] Ausgehend von den Gleichungen 25 und 26 ergibt sich:

$$\mu = \gamma \cdot \hbar \cdot \sqrt{I \cdot (I + 1)} \quad (27)$$

Hieraus ist ersichtlich, dass lediglich Kerne mit einer von null verschiedenen Kernspinquantenzahl ein magnetisches Moment aufweisen. Aus diesem Grund sind Isotope wie auch ^{12}C oder ^{16}O ($I=0$) in der NMR-Spektroskopie nicht sichtbar, während ^1H und ^{13}C mit einem Kernspin von $I = 1/2$ zu den NMR-aktiven Atomen zählen.

Setzt man einen NMR-geeigneten Atomkern einem statischen Magnetfeld B_0 aus, so findet eine Ausrichtung seines Drehimpulses im Raum statt. Das Resultat dieser Orientierung ist eine Richtungsquantelung, welche sich in einer Drehimpulskomponente P_z in Magnetfeldrichtung äußert, die einem ganz- oder halbzahligen Vielfachen von \hbar entspricht (Gleichung 28).

$$P_z = m \cdot \hbar \quad (28)$$

m = Magnetquantenzahl ($m = I, I-1, \dots, -I$; entsprechend $(2I+1)$ unterschiedlichen Zuständen)

Hieraus ergibt sich zusammen mit Gleichung 26 für die Komponente des magnetischen Moments in Feldrichtung:

$$\mu_z = m \cdot \gamma \cdot \hbar \quad (29)$$

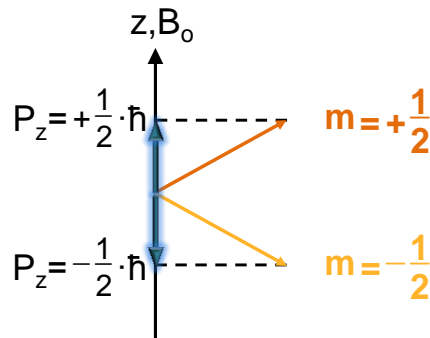


Abbildung 39: Schematische Darstellung zur Richtungsquantelung des Drehimpulses P im Magnetfeld für Kerne mit $I = 1/2$.^[nach 134]

Des Weiteren rotieren die in dem Magnetfeld befindlichen Kerne um die der Richtung des Magnetfeldes entsprechenden z -Achse.^[136] Die zugehörige, zur Magnetfeldstärke proportionale Präzessionsfrequenz wird als Larmor-Frequenz ν_L bezeichnet und wird durch Gleichung 30 beschrieben.

$$\nu_L = \left| \frac{\gamma}{2 \cdot \pi} \right| \cdot B_0 \quad (30)$$

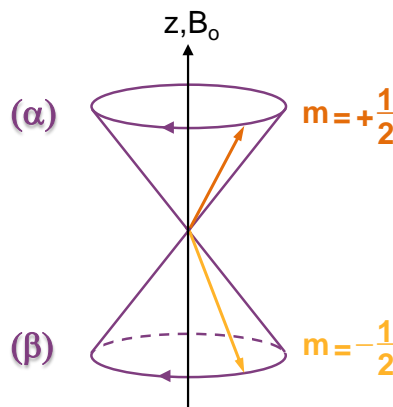


Abbildung 40: Schematische Darstellung zum Doppelpräzessionskegel für Kerne mit $I = 1/2$.^[nach 134]

Die Berechnung der potentiellen Energie E_{pot} der Kerne im Magnetfeld erfolgt mittels Gleichung 31.

$$E_{\text{pot}} = -\mu_z \cdot B_0 = m \cdot \gamma \cdot \hbar \cdot B_0 \quad (31)$$

Aus der Abhängigkeit von der Magnetquantenzahl ergibt sich das Vorhandensein von $(2I+1)$ nicht entarteten, äquidistanten Energiezuständen, den sog. Zeeman-Niveaus.^[135] Die Energiedifferenz ΔE_{pot} zweier benachbarter Zustände errechnet sich gemäß Gleichung 32.

$$\Delta E_{\text{pot}} = \gamma \cdot \hbar \cdot B_0 \quad (32)$$

Im Fall von ^1H -Atomen und anderen Kernen mit $I = 1/2$ existieren folglich zwei energetisch unterschiedliche Spinzustände. Man spricht in diesem Zusammenhang vom α - und β -Niveau, wobei sich ersteres auf Grund der parallelen Ausrichtung von μ_z zur Feldrichtung als das energetisch günstigere erweist (Abb. 41).

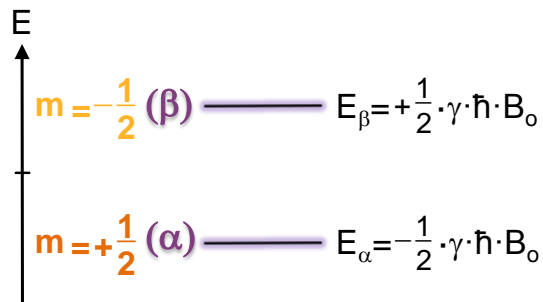


Abbildung 41: Energieniveauschema für Kerne mit $I = 1/2$.^[nach 134]

Der Besetzungsunterschied der beiden Energieniveaus im thermischen Gleichgewicht entspricht der in Gleichung 33 beschriebenen Boltzmann-Verteilung.^[134]

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = \exp\left(-\frac{\Delta E_{\text{pot}}}{k_B \cdot T_{\text{abs}}}\right) \quad (33)$$

N_x = Anzahl der Kerne im Zustand x

k_B = Boltzmann-Konstante, $1.3806 \cdot 10^{-23} \text{ J/K}$ ^[134]

T_{abs} = absolute Temperatur

Infolge des Besetzungsunterschieds existiert eine, der Summe der z-Komponenten aller magnetischen Kernmomente entsprechende, makroskopische Magnetisierung M_0 in Feldrichtung (Abbildung 42).

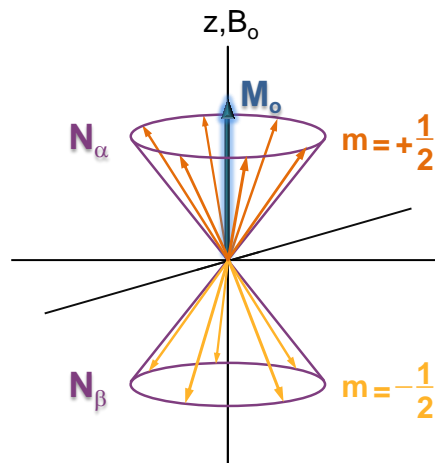


Abbildung 42: Schematische Darstellung der Verteilung der Kerne auf dem Doppelpräzessionskegel und der daraus resultierenden makroskopischen Magnetisierung M_0 .^[nach 134]

Bei einem Kernresonanzexperiment werden durch das Einstrahlen eines Radiofrequenzfeldes (RF), welches ein oszillierendes Magnetfeld B_1 erzeugt und dessen Frequenz zum Zwecke der Resonanz der Larmor-Frequenz entspricht, Übergänge zwischen den Energieniveaus induziert. Hierbei gibt es sowohl Übergänge vom α - in den β -Zustand mittels Energieabsorption, als auch den umgekehrten, von Emission begleiteten Vorgang. Da im Grundzustand das energieärmere Niveau stärker besetzt ist, überwiegt die Energieabsorption, welche als Signal detektiert wird. Hieraus resultierend kommt es zu einer Auslenkung der Magnetisierung M_0 aus der Ruheachse in Form einer Drehung in der zur Einstrahlungsrichtung senkrecht stehenden Ebene. Der Winkel θ dieser Auslenkung ist dabei von der Pulslänge τ_P , der Pulsstärke B_1 sowie den Eigenschaften der Kerne γ abhängig.^[137]

Da eine Veranschaulichung der Bewegung der Magnetisierung um ein sich drehendes Feld herum mit Problemen behaftet ist, wird im Folgenden ein rotierendes Koordinatensystem (x' , y' , z) zur Darstellung gewählt.^[138]

Ein Puls mit einem θ von 90° ($\pi/2$) bewirkt beispielsweise, dass alle Spins in der $x'y'$ -Ebene senkrecht zur z -Achse präzedieren, die z -Komponente der Magnetisierung ist demnach null und die Signalintensität ist auf Grund der Lage des Detektors maximal (Abbildung 43 b)). Ein 180° -Puls hingegen führt zu einer Besetzungsinversion und einer minimalen Signalstärke (Abbildung 43 c)). Bei einem Winkel $\theta \neq 0^\circ, 180^\circ, 360^\circ, \dots$ kommt es hierbei zum Auftreten einer Quermagnetisierung M_y (Abbildung 43 a) bzw. b)).

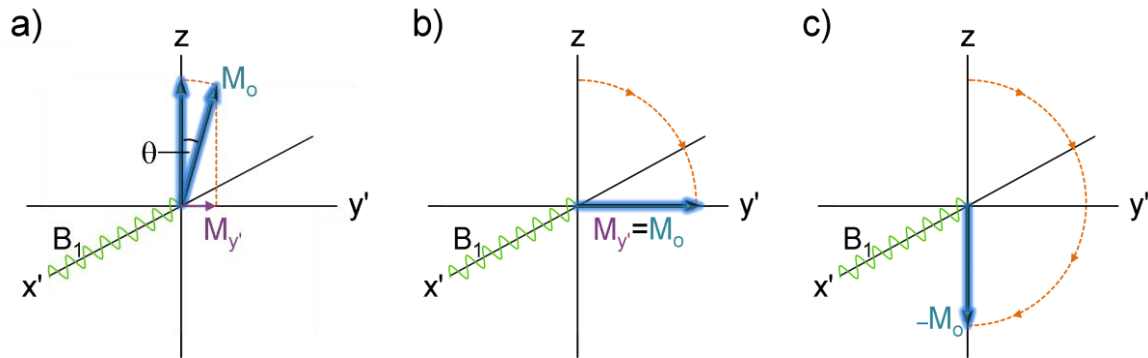


Abbildung 43: Auslenkung des makroskopischen Magnetisierungsvektors M_0 im rotierenden Koordinatensystem, a) nach einem beliebigen Puls, b) nach einem 90° -Puls und c) nach einem 180° -Puls.^[nach 134]

Nach Beendigung der Impulseinstrahlung kehrt das Spinsystem durch Relaxationsprozesse in den Gleichgewichtszustand zurück. Hierbei kann zwischen longitudinaler (Spin-Gitter-) und transversaler (Spin-Spin-) Relaxation unterschieden werden. Erstere wird durch die Zeit T_1 charakterisiert und beinhaltet die Energieabgabe vom Spinsystem an das umgebende Gitter. Bei der transversalen Relaxation hingegen, welche durch die Zeit T_2 beschrieben wird, findet ein Energieaustausch zwischen den einzelnen Spins des Systems statt, welcher eine Auffächerung der Magnetisierung und damit einen Verlust der Phasenkohärenz hervorruft.^[135] Beide Prozesse führen, ebenso wie Feldinhomogenitäten, zu einer Abnahme des Messsignals. Man erhält eine Signalzerfallskurve, das sog. FID (free induction decay), welches mit Hilfe einer Fourier-Transformation, durch Übertragen der Zeit- in die Frequenzdomäne, in ein konventionelles Kernresonanzspektrum umgewandelt werden kann (Abbildung 44).^[136]

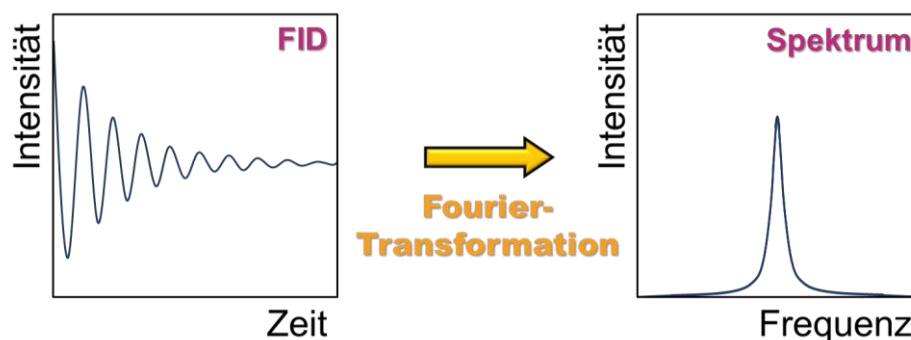


Abbildung 44: Schematische Darstellung zur Fourier-Transformation.

Ein solches Spektrum dient der Darstellung und Analyse der NMR-Signale hinsichtlich ihrer Frequenz und Intensität. Hierbei liefert die Frequenz qualitative Informationen hinsichtlich der lokalen atomaren Umgebung eines Kerns. Die durch Integration ermittelte Fläche eines Sig-

nals hingegen enthält quantitative Informationen, da sie ein Maß für die Signalstärke ist und somit proportional zur Anzahl der Kerne, die zu diesem Signal beitragen.^[139]

In der Regel erfolgt die Angabe der gemessenen Signale jedoch vereinfacht. Dies geschieht in Form von Frequenzmessungen in Bezug zu einer geeigneten Referenzsubstanz (wie beispielsweise Tetramethylsilan, kurz TMS) und der Einordnung aller Frequenzen relativ zu dieser. Eine weitere Vereinfachung erhalten die resultierenden Kernresonanzspektren durch eine Umrechnung der Frequenzen von Hertz (Hz) in parts-per-million (ppm), da auf der Basis dieser Einheit die einzelnen Frequenzen als Bruchteil der Absolutfrequenzen dargestellt werden. Die von der Magnetfeldstärke unabhängige Frequenzmessung in ppm vereinfacht den Vergleich von Messergebnissen verschiedener Spektrometer.^[139]

3.5 Kernresonanzspektroskopie mit gepulsten Feldgradienten (PFG-NMR)

Wie bereits im vorhergehenden Abschnitt erwähnt, eignet sich die Kernresonanzspektroskopie nicht nur zur Untersuchung molekularer Strukturen, sondern ebenso zur Beobachtung und Untersuchung dynamischer Prozesse, denen auch Diffusionsvorgänge in Flüssigkeiten und Lösungen zuzuordnen sind.

Generell unterscheidet man zwischen zweierlei Arten der Diffusion: der Transport- und der Selbstdiffusion. Die Transportdiffusion ist eine Folgeerscheinung von makroskopischen Konzentrations- bzw. Potentialgradienten, welche vom System durch gerichteten Stofftransport ausgeglichen werden.^[15, 136]

Der Vorgang der Selbstdiffusion, welcher auch in den in dieser Arbeit zu untersuchenden Proben beobachtet werden soll, beruht auf der regellosen Teilchenbewegung resultierend aus lokalen Konzentrations- und Dichteunterschieden (Brownsche Molekularbewegung). Dieser Prozess und der zugehörige Diffusionskoeffizient zeigen sowohl eine Abhängigkeit von der Größe und Form der beteiligten Moleküle, als auch von der Temperatur und der Viskosität der Flüssigkeit.^[140]

Zur Betrachtung der Molekülbeweglichkeit und der zugehörigen Diffusionskoeffizienten ist es möglich sich der auf gepulsten Feldgradienten basierenden Kernresonanzspektroskopie, der sog. PFG-NMR (pulsed field gradient), zu bedienen. Diese Messtechnik basiert auf abgewandelten Pulssequenzen bei denen durch Verwendung zusätzlich eingestrahelter Magnet-

felder lineare Magnetfeldgradienten G in Richtung des B_0 -Feldes generiert werden. Hierbei erfolgt die Einstrahlung so, dass in der Mitte der zugehörigen Spule der Feldgradient gleich null ist, hier wirkt lediglich B_0 auf die Kerne der Probe. Auf Grund der Resonanzbedingung ergibt sich für die Präzessionsfrequenz ν_n eines Kerns am Ort n im Bezug auf die z -Achse innerhalb des Messvolumens:

$$\nu_n = \left| \frac{\gamma}{2 \cdot \pi} \right| \cdot (B_0 + G_n) \quad (34)$$

G_n = Feldstärke des Gradientenfeldes am Ort n

Demnach führt der Gradient zu einer Ortskodierung der Kerne, welche je nach Position im Probenröhrchen eine unterschiedliche Frequenz aufweisen. Der Gradient wirkt allerdings über ein kurzes Zeitintervall δ (Gradientenlänge) und nicht kontinuierlich, was bedeutet, dass nach dem Abschalten des zusätzlichen Feldes auf alle Kerne nur noch B_0 wirkt und diese mit ν_0 bzw. ν_L präzedieren.^[134]

Die zugehörigen möglichen Pulsprogramme der PFG-NMR sind zahlreich, ihr grundsätzliches Prinzip fußt dennoch meist auf den beiden ältesten Pulssequenzen, der Hahn-Echo- (HE, Abbildung 45) und der Stimulated-Echo-Pulsfolge (STE, Abbildung 46).^[15]

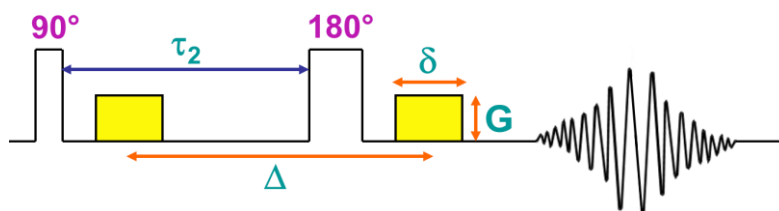


Abbildung 45: Schematische Darstellung der Hahn-Echo-Pulssequenz (die Feldgradientenpulse sind hier gelb gekennzeichnet).

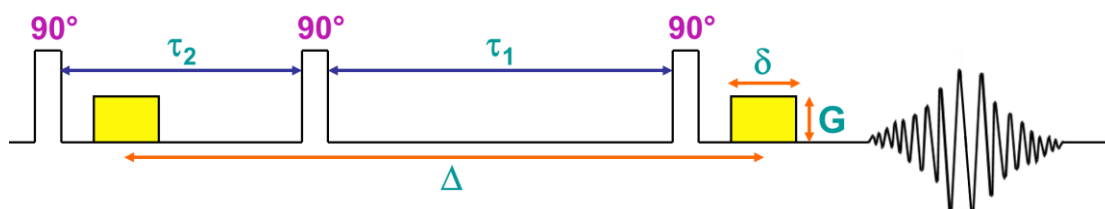


Abbildung 46: Schematische Darstellung der Stimulated-Echo-Pulssequenz (die Feldgradientenpulse sind hier gelb gekennzeichnet).

Betrachtet man die makroskopische Magnetisierung im Verlauf eines PFG-NMR-Experiments, so befindet sich diese zunächst entlang der z -Achse orientierte Größe nach

dem ersten 90° -Puls in der hierzu senkrecht befindlichen Ebene. Die Gesamtheit der Kerne ergibt hierbei eine Quermagnetisierung in Richtung der y' -Achse (Abbildung 47).

Die Einstrahlung des ersten Gradientenpulses hebt die Phasenkohärenz der Spins der Probe auf, wobei die Phasenverschiebung abhängig von der Kernposition in Bezug auf die z -Achse ist. Durch Verbinden der Vektorenspitzen erhält man eine Helixstruktur (Abb. 47).^[134]

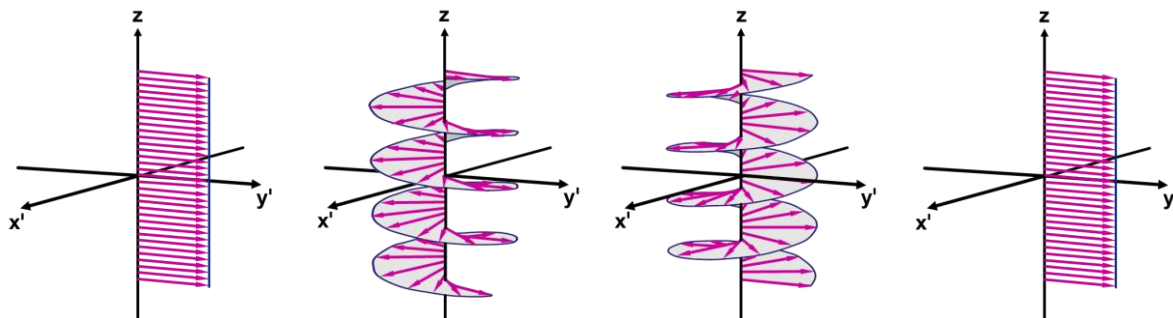


Abbildung 47: Darstellung zur Veranschaulichung des Kernspinverhaltens: a) nach dem ersten 90° -Puls, b) Auffächern nach Einstrahlen des ersten Feldgradienten, c) Inversion durch 180° -Puls und d) Refokussierung unter dem Einfluss des zweiten Gradientenpulses einer HE-Pulsfolge ohne Diffusionsvorgänge.^[nach 141]

Ein anschließender 180° -Puls, wie bei einer Hahn-Echo-Pulsfolge verwendet, invertiert die vorhergehende Phasenverschiebung, der zweite Gradientenpuls kann, im Falle der Abwesenheit von Diffusionsvorgängen, die Phasenkohärenz wiederherstellen.^[141] Befinden sich alle Spins in Phase entspricht dies einem maximalen Echosignal. Treten Diffusionsprozesse auf, beeinträchtigen sie die Refokussierung der Helix, so dass das resultierende Echosignal abgeschwächt wird. Im zugehörigen NMR-Spektrum spiegelt sich dies in einer Abnahme der Signalintensität wider (Abbildung 48).

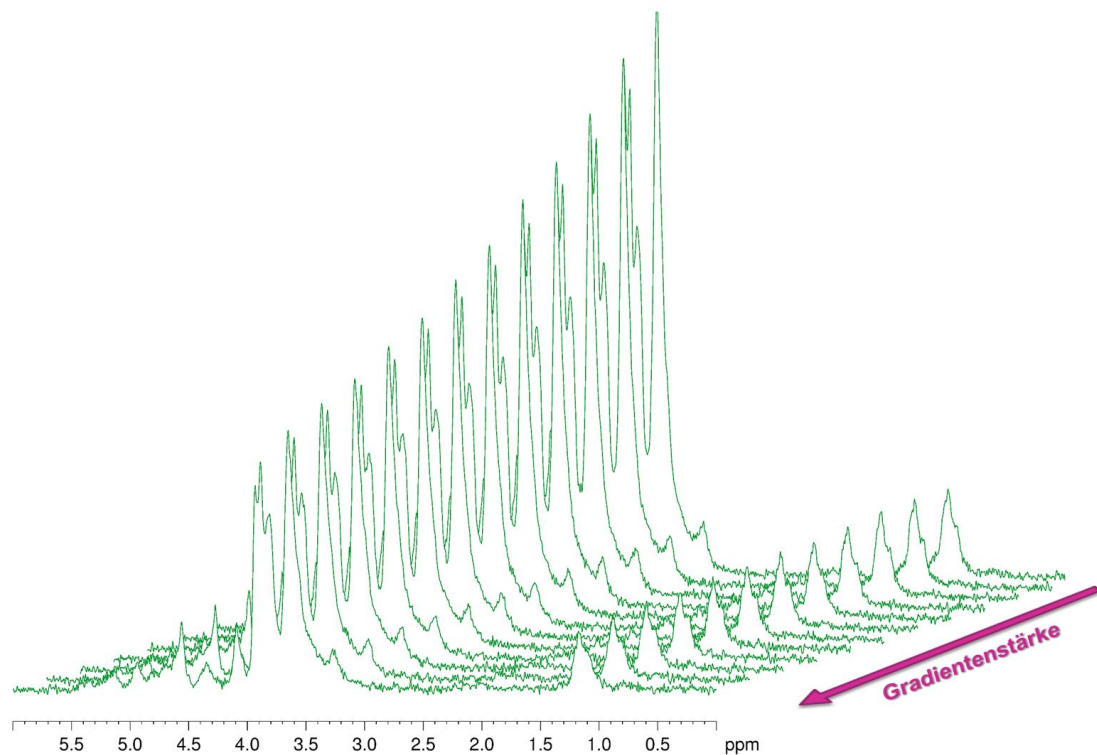


Abbildung 48: Signalzerfall von Alginat in deuteriertem Wasser in Abhängigkeit von der Gradientenstärke.

Die auftretenden Intensitätsänderungen der Signale im Kernresonanzspektrum werden durch Gleichung 35 beschrieben.^[140]

$$I = I_o \cdot \exp\left(-D \cdot \gamma^2 \cdot G^2 \cdot \delta^2 \cdot \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)\right) \quad (35)$$

I = beobachtbare Intensität

I_o = Referenzintensität (unabgeschwächte Signalintensität)

Δ = Diffusionszeit

Bei einem Hahn-Echo-Experiment nimmt die Spin-Echo-Amplitude auf Grund der transversalen Relaxation, welche während der gesamten Diffusionszeit stattfindet, ab. Dies hat eine Beschränkung der maximal möglichen Diffusionszeit zur Folge, deren Höchstwert T_2 (im Millisekundenbereich) entspricht.^[15] Für lange Diffusionszeiten ist die Stimulated-Echo-Pulssequenz besser geeignet, bei welcher anstelle eines 180° -Pulses zwei 90° -Pulse erfolgen. Durch die Auftrennung der Pulse findet eine Verlagerung der Gesamtmagnetisierung in z-Richtung statt, so dass ein Signalabbau durch Spin-Spin-Relaxation vermieden werden kann.^[136] In diesem Fall wird die maximale Diffusionszeit durch die longitudinale Relaxation und das zugehörige Zeitintervall T_1 , welches im Sekundenbereich liegt, bestimmt.

Es existieren wichtige Aspekte, welche zum Zweck einer akkuraten Bestimmung der Diffusionskonstanten berücksichtigt werden sollten. Hierzu zählt, wie bei allen kernresonanzspektroskopischen Untersuchungen, ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis. Eine weitere wichtige Voraussetzung ist eine entsprechend qualitative Gradientenspule, um einen linearen Feldgradienten über das gesamte Probenvolumen sicherzustellen.^[140] Die Länge der Gradientenspule erfordert eine Beschränkung des Probenvolumens um Konvektionen zu vermeiden. Selbiges Phänomen kann auch durch unzureichende Temperaturstabilität und einen damit verbundenen Temperaturgradienten entlang der Probe auftreten. Durch einen Fluss des Solvents, welcher zumeist viel schneller ist als die zu beobachtende Selbstdiffusion, kann es zu einer Verfälschung der Messergebnisse kommen. So können auch durch Verdampfungs- und Kondensationsprozesse bei Flüssigkeiten mit einem geringen Siedepunkt und dem damit verbundenen Fluss Störungen der Diffusionsmessungen auftreten.^[140]

Zum Erzielen einwandfreier Messergebnisse ist eine optimale Anpassung der Parameter, welche die Abklingfunktion beeinflussen, sprich der Gradientenstärke G , der Diffusionszeit Δ sowie der Gradientenlänge δ , unabdingbar (Abbildung 49).

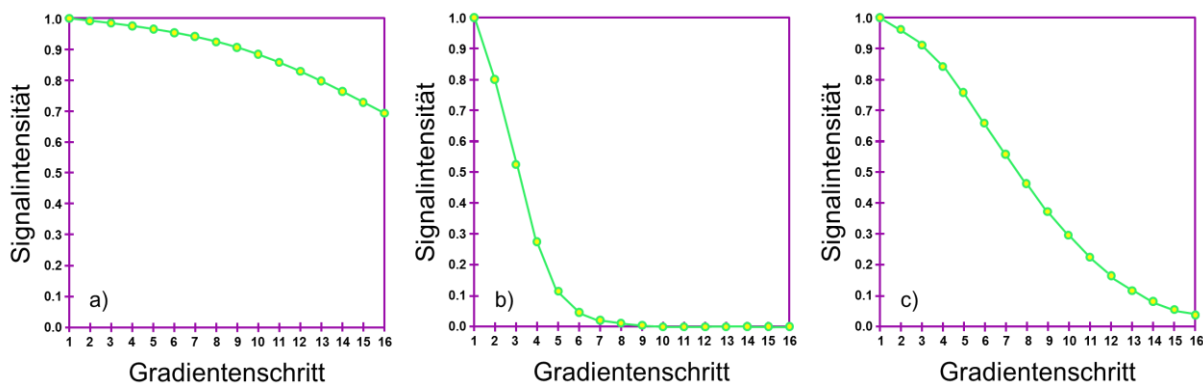


Abbildung 49: Schematische Darstellung dreier Abklingkurven (G stufenweise variiert) mit identischer Diffusionskonstante, Anpassung der Parameter Δ und δ a) zu klein, b) zu groß bzw. c) angemessen.

3.6 Rotationsviskosimetrie (RT)

Die Viskosität, welche auch als innere Reibung bezeichnet wird, ist den Transportprozessen zuzuordnen.^[122, 142] Neben der Viskosität, welche einem Impulstransport entlang eines Geschwindigkeitsgradienten entspricht, gehören auch Diffusions- oder Wärmeleitfähigkeitsvorgänge infolge eines Konzentrations- respektive Temperaturgradienten (mit Materie bzw. Energie als Transportgröße) zu diesen Transportprozessen.^[142]

Zur Erläuterung des Viskositätsphänomens und zur Ableitung des zugehörigen Viskositätskoeffizienten (η , auch dynamische Viskosität) dient die exemplarische Betrachtung eines laminar entlang der positiven x-Achse strömenden Fluids (Abb. 50).^[13, 122] Die Strömungsbewegung des Fluids auf Grund des Geschwindigkeitsgradienten in z-Richtung kann hierbei ebenso als das Strömen zahlreicher dünner, aneinander vorbeigleitender Einzelschichten (parallel zur x,y-Ebene) angesehen werden. Hierbei ist die Schicht in direkter Nachbarschaft zur Wandung ortsfest, ihre Geschwindigkeit v ist entsprechend gleich null. Die Geschwindigkeit der anderen Schichten ergibt sich aus dem Geschwindigkeitsgradienten dv_x/dz und der zugehörigen z-Koordinate.^[122] Anstelle der Bezeichnung des Geschwindigkeitsgradienten wird oftmals auch der Begriff der Schergeschwindigkeit D verwendet.^[143] Die einzelnen Moleküle des Fluids sind nun dazu befähigt sich zwischen den Schichten hin und her zu bewegen, ein Vorgang, welcher mit einer Übertragung von Impulskomponenten in x-Richtung einhergeht. Je nachdem, ob es sich um Teilchen aus einer schnelleren oder langsameren Schicht handelt, sprich ihr Impuls größer oder kleiner ist als der der bereits vorhandenen Teilchen, resultiert ein solcher Molekülübergang in einer beschleunigenden oder bremsenden Wirkung.^[122, 142]

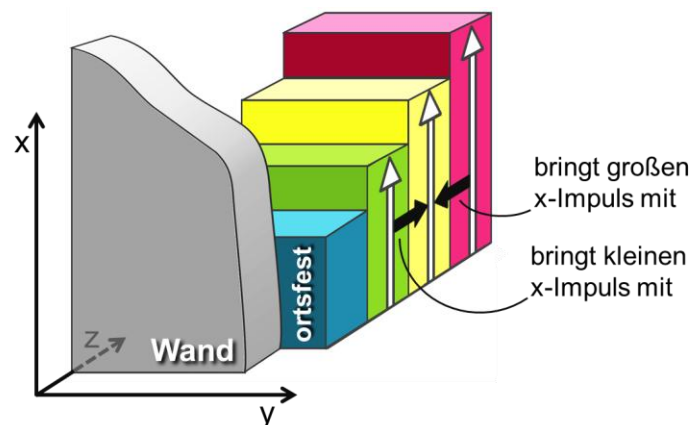


Abbildung 50: Schematische Darstellung zum Impulstransport in einer laminar strömenden Flüssigkeit zur Erläuterung des Viskositätsphänomens.^[nach 110]

Mit diesem Umstand geht eine zwischen benachbarten Schichten auftretende Reibungskraft F_R einher, welche entgegengesetzt zur Relativbewegung der Schichten wirkt.^[122] Diese Kraft ist im Falle sogenannter newtonscher Flüssigkeiten proportional zum Geschwindigkeitsgefälle senkrecht zur Bewegungsrichtung, sowie der Schichtfläche A . Dieser Zusammenhang wird durch das Newtonsche Reibungsgesetz (Gleichung 36) beschrieben.^[13]

$$F_R = -\eta \cdot A \cdot \frac{dv_x}{dz} \quad (36)$$

Diese Reibungskraft ist im Falle Newtonscher Flüssigkeiten als Stoffkonstante zu betrachten. Auf ihrer Basis lässt sich die Schubspannung τ entsprechend Gleichung 37 berechnen.^[143]

$$\tau = \frac{|F_R|}{A} = \eta \cdot \frac{dv_x}{dz} = \eta \cdot D \quad (37)$$

An Hand des Newtonsches Reibungsgesetzes lässt sich zudem die Gleichung von Hagen-Poiseuille ableiten, welche die Beschreibung der laminaren Strömung einer Flüssigkeit (Gl. 38) bzw. eines Gases entlang eines Rohres bzw. einer Kapillare (mit der Länge l und dem Radius r_R , vgl. Abb. 51) erlaubt und eine einfache Bestimmung des Viskositätskoeffizienten ermöglicht (Gl. 39). Der Strom des fluiden Mediums wird dabei durch das Anlegen einer Druckdifferenz ($p_1 > p_2$) hervorgerufen, so dass ein Flüssigkeitsvolumen V das Rohr in einer Zeitspanne t durchfließt.^[122]

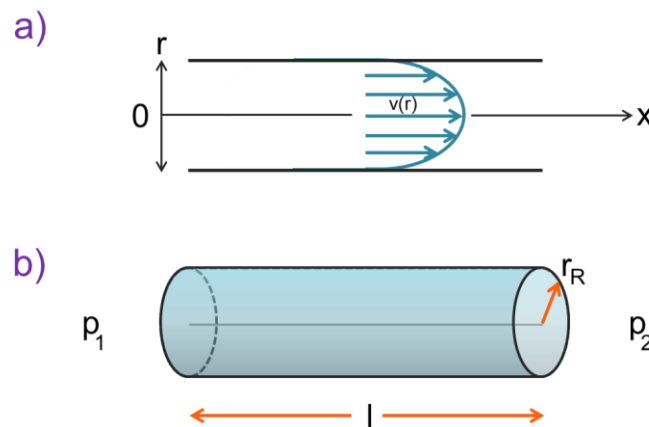


Abbildung 51: Schematische Darstellung a) zum laminaren Strömungsprofil bzw. b) zur Ableitung der Hagen-Poiseuilleschen Gleichung.^[nach 122]

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\pi}{8 \cdot \eta \cdot l} \cdot (p_1 - p_2) \cdot r_R^4 \quad (38)$$

$$\eta = \frac{\pi}{8 \cdot V \cdot l} \cdot (p_1 - p_2) \cdot r_R^4 \cdot t \quad (39)$$

Im Falle eines Gases als fluidem Medium muss zudem die Expansion infolge der Druckverminderung berücksichtigt und mit in die Gleichungen einbezogen werden.^[122]

Neben Flüssigkeiten, die dem Newtonschen Reibungsgesetz folgen, gibt es auch solche, welche sich durch ein abweichendes Verhalten auszeichnen. Für solche nicht-newtonschen Fluide existiert ein nicht-linearer Zusammenhang zwischen der Schergeschwindigkeit und

der Schubspannung, so dass der Viskositätskoeffizient eine Abhängigkeit vom Geschwindigkeitsgradienten aufweist.^[143] Eine Auftragung der dynamischen Viskosität η gegen die Schergeschwindigkeit D liefert sogenannte Fließkurven, an Hand derer diese Fluide unterschieden werden können (Abb. 52). So kann eine generelle Einteilung von flüssigen, nicht-newtonschen Medien in drei Gruppen erfolgen. Die erste dieser Gruppen umfasst pseudo-plastische und dilatante Flüssigkeiten, sprich solche Fluide ohne elastisches Verhalten, für welche eine eindeutige, von der Zeit unabhängige und nicht-lineare Proportionalität zwischen der Schergeschwindigkeit und der Schubspannung zu finden ist.^[143] Pseudoplastizität umfasst einen Viskositätsabfall mit steigendem Geschwindigkeitsgradienten und ist z. B. bei Polymerlösungen oder -schmelzen zu finden.^[13] Dilatanz hingegen beinhaltet den Anstieg der Viskosität infolge einer Erhöhung der Schergeschwindigkeit. Flüssigkeiten ohne elastische Eigenschaften, für welche eine Abhängigkeit des Geschwindigkeitsgradienten von τ und der Einwirkzeit t der Scherkräfte besteht, sind der Gruppe der thixotropen und rheopektischen Stoffe zuzuordnen. Ein Absinken der Viskosität mit der Einwirkzeit ist für thixotrope Substanzen typisch. Ein Viskositätsanstieg mit t spricht für die Gegenwart eines rheopektischen Fluids. Viskoelastische Flüssigkeiten heben sich von den bisher erläuterten Gruppen dahingehend ab, da hier eine Abhängigkeit des Geschwindigkeitsgradienten von der Schubspannung, von der Einwirkzeit, sowie dem elastischen Verhalten, sprich dem Auftreten einer Rückstellkraft, besteht.^[143]

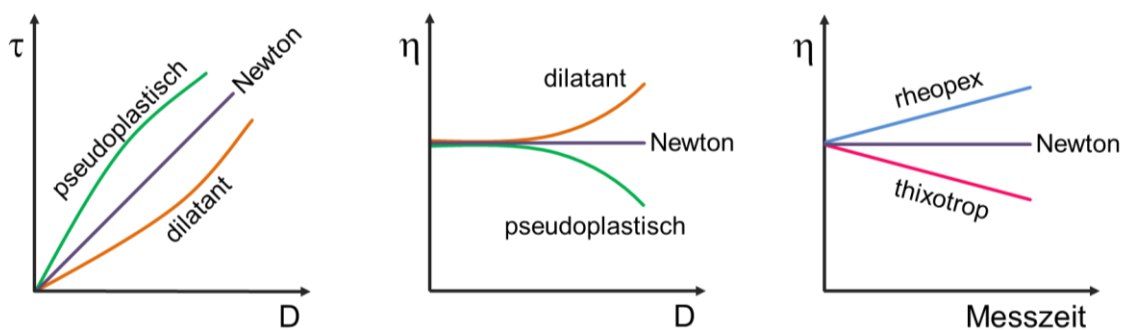


Abbildung 52: Schematische Darstellung der differierenden Abhängigkeiten newton-scher und nicht-newtonscher Flüssigkeiten.^[nach 143]

Die Viskosimetrie, sprich die Bestimmung der Viskosität, stellt ein häufig verwendetes Verfahren der Analytik dar. So kann sie beispielsweise bei der Untersuchung von Polymeren dazu genutzt werden, um Rückschlüsse hinsichtlich der Polymerform und -molmasse zu ziehen. Optionen zur Viskositätsmessung bietet die Verwendung von Kapillar- oder Fallkörperviskosimetern.^[13] Eine weitere Möglichkeit bietet der Einsatz eines sog. Rotationsviskosimeters, wie es auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde. Diesem Messprinzip können unterschiedliche apparative Aufbauten zugrunde liegen. Neben einem Platte-Platte-Viskosimeter, welches vor allem für hochviskose Proben geeignet ist, kann die Untersuchung

nieder- oder mittelviskoser Flüssigkeiten z. B. mit Hilfe eines Koaxial-Zylinder-Rotationsviskosimeters erfolgen. Dies zeichnet sich dadurch aus, dass die sich in einem Ringspalt zwischen innerem und äußerem Zylinder befindliche Messflüssigkeit durch Rotation des inneren Zylinders oder aber des äußeren Systems untersucht werden kann. Im Falle eines rotierenden Innenzylinders handelt es sich um ein sog. Searle-Viskosimeter, im gegenteiligen (hier angewandten) Fall spricht man von einem Couette-System (Abb. 53).

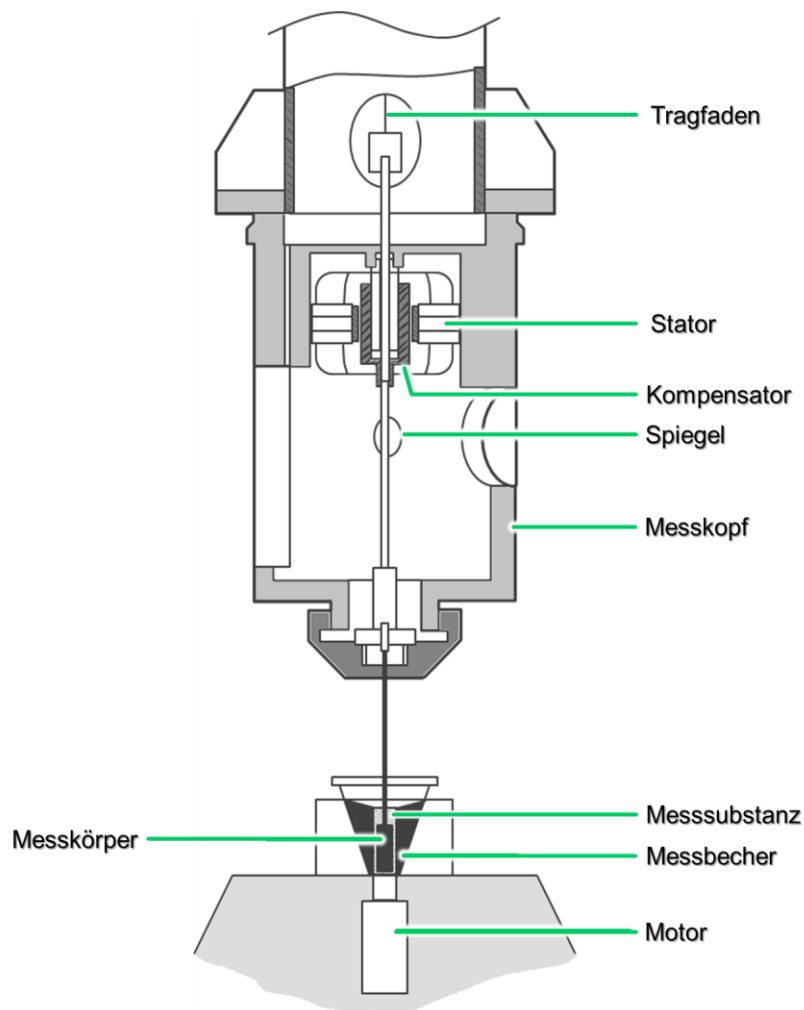


Abbildung 53: Schematische Darstellung des apparativen Aufbaus des verwendeten Couette-Rotationsviskosimeters. ^[nach 144]

Durch die Rotation wird ein Geschwindigkeitsgefälle erzeugt und eine Scherung mit gewünschter Spannung generiert. Hierdurch wird wiederum ein Drehmoment übertragen, welches durch seine Proportionalität zum Viskositätskoeffizienten η gekennzeichnet ist. Die damit verbundene Auslenkung kann beispielsweise mittels Torsionsfeder kompensiert und die Gleichgewichtslage elektrisch erfasst werden. Auf die Ober- bzw. Unterseite des Messkörpers wirkende Scherkräfte werden hier durch die Verwendung zuvor definierter Korrekturfaktoren rechnerisch eliminiert.^[13]

In der vorliegenden Arbeit soll das Analyseverfahren der Rotationsviskosimetrie dazu verwendet werden Unterschiede in der molekularen Konformation von Alginatmolekülen in wässriger Lösung und auftretende Wechselwirkungen (intra- oder intermolekularer Natur) mit mehrwertigen Kationen infolge der schrittweisen Konzentrationserhöhung selbiger festzustellen. So hat die äußere Form von Polymerketten in Lösung einen entscheidenden Einfluss auf die Viskosität, wie es auch aus der Mark-Houwink-Gleichung (Gl. 21, Abschnitt 3.3) hervorgeht. Hier wird die Grenzviskosität $[\eta]$, welche sich an Hand der rotationsviskosimetrisch erworbenen Daten ebenfalls auf Basis von Gleichung 40 berechnen lässt, entscheidend vom Mark-Houwink-Exponent α bestimmt, dessen Wert als Indiz für die Teilchenform bzw. die Kompaktheit der Molekülstruktur in Lösung interpretiert werden kann.

$$[\eta] = \frac{\eta - \eta_{\text{Lömi}}}{\eta_{\text{Lömi}}} \cdot \frac{1}{c} \quad (40)$$

η = Viskosität der Lösung

$\eta_{\text{Lömi}}$ = Viskosität des Lösungsmittels

c = Konzentration des gelösten Polymers

4 Praktische Durchführung

4.1 Aufreinigung der Polysaccharide

Um die Abwesenheit von Fremdstoffen und einen möglichst hohen Natriumsalzanteil der anionischen Polysaccharide zu erzielen, ist eine vorherige Aufreinigung der Ausgangssubstanzen notwendig. Zu diesem Zweck wird das jeweilige Polysaccharid mit einer Konzentration von 2 g/L in einer 0.1 M Natriumchlorid-Lösung gelöst.

Je nach Art der durchzuführenden Analyse bzw. im Hinblick auf den gewünschten Molmassenbereich des jeweiligen Glykans schließt sich an diesem Vorgang ein Degradationsschritt mittels Ultraschall an. Hierzu wird die Lösung über einen angemessenen Zeitraum (zwischen 0.5 und 32 h) bei einer maximalen Temperatur von 50°C und einer Intensität von 60 W beschallt.

Den nächsten Arbeitsschritt bildet das Entfernen unerwünschter Partikel mittels Zentrifugation (1 h, 4000 rpm) und darauffolgender Filtration unter vermindertem Druck. Auf diese Weise kann unter anderem der mit dem Ultraschallabbau einhergehende Titanabrieb von der Polymerlösung separiert werden.

Zur Abtrennung überschüssiger Ionen wird die Lösung mittels destillierten Wassers dialysiert, wobei Dialyseschläuche mit einer Ausschlussgrenze von 12000-14000 g/mol (Visking, Serva Heidelberg, Deutschland) Verwendung finden. Für die Reinigung wird ein ungefähres Verhältnis von 1:20 zwischen Polysaccharidlösung und umgebendem Dialysat genutzt. Dieser Vorgang schließt einen periodischen Wechsel des umgebenden Mediums ein, welcher zunächst viermal viertelstündig und anschließend zweimal halbstündig durchgeführt wird. Der letzte Dialysezyklus erstreckt sich über einen Zeitraum von ca. 12 bis 16 h.

Zur Trocknung der aufgereinigten Glykane werden die dialysierten Lösungen mittels flüssigem Stickstoff eingefroren und abschließend etwa 10 h bei -18°C und einem ungefähren Druck von 0.75 mbar lyophilisiert.

Zur Überprüfung der Vollständigkeit des Ionenaustausches bzw. zwecks Analyse der Polymerprobenzusammensetzung werden atomabsorptionspektrometrische Messungen vorgenommen, deren Ergebnisse dem Anhang zu entnehmen sind (Abbildung A-1 bis A-3).

4.2 Probenpräparation zur Analyse mittels AFM

Zum Zwecke der rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen werden wässrige Lösungen der zu untersuchenden Polysaccharide mit einer Konzentration von 0.1 mg/mL angesetzt. Als Lösungsmittel dient hierbei bidestilliertes Wasser, für welches VE-Wasser aus einem Kaliumpermanganat-Sumpf destilliert und anschließend über einen sterilen Cellulosenitrat-Filter der Firma Sartorius mit einer Porengröße von 0.45 μm filtriert wird.

Zur Untersuchung der Glykane in Gegenwart mehrwertiger Ionen werden die Salzkonzentrationen zwischen 0 und 0.25 $\mu\text{mol/mL}$ variiert. Von den entstandenen Lösungen werden jeweils 25 μL auf einen gereinigten Silizium-Wafer (Abmessungen: 4 x 4 mm) aufgebracht und anschließend für ca. 12 h bei Raumtemperatur getrocknet.

Die Reinigung der Wafer erfolgt durch mehrmaliges Abspülen mit 2-Propanol, Abreiben der Siliziumoberfläche mit Ethanol und abschließendem Trocknen im Stickstoffstrom.

4.3 Probenpräparation zur Analyse mittels CT

Die Probenpräparation zum Zwecke der konduktometrischen Untersuchungen erfolgt in Anlehnung an die Vorgehensweise vorangegangener Arbeiten.^[12, 13] Da eben diese bereits die Analyse der Polysaccharide Dextran und Natriumhyaluronat in Gegenwart unterschiedlicher bi- und trivalenten Ionen umfassen, soll in dieser Arbeit lediglich auf das Verhalten von ungebautem Natriumalginat in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen an Mg^{2+} -, Ni^{2+} -, Zn^{2+} -, Cd^{2+} -, Ca^{2+} -, Pb^{2+} -, Ba^{2+} - und Cr^{3+} -haltigen Salzen und die zugehörigen CT-Messungen eingegangen werden.

Für jedes zu betrachtende Kation werden fünf unterschiedlich konzentrierte Alginat-Lösungen mit einem jeweiligen Anfangsvolumen von 100 mL in deionisiertem Wasser angesetzt und, um ein vollständiges Lösen sicherzustellen, vor der Messung eine Stunde bei $25.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ gerührt. Die Konzentrationen der Ausgangslösungen, sowohl der Alginat- als auch der Salzlösungen, werden den zu erwartenden Wechselwirkungen und Gelbildungsprozessen entsprechend gewählt. Der Alginat-Gehalt der Polysaccharidlösungen wird hierbei zwischen 0.125 und 3 mg/mL variiert, die Konzentration der ebenfalls auf deionisiertem Wasser basierenden Salzlösungen liegt bei zwischen 0.0125 und 0.05 mol/L (vgl. Abschnitt 5.2.1, Tab. 11).

4.4 Probenpräparation zur Analyse mittels GPC

Zur Untersuchung mit Hilfe der Gelpermeationschromatographie werden Lösungen der Polysaccharide mit einer Konzentration zwischen 0.3 und 0.6 mg/mL in Puffer bzw. bidestilliertem Wasser angesetzt. Die verwendete Pufferlösung beinhaltet 0.1 mol/L Natriumnitrat, 0.005 mol/L Natriumdihydrogenphosphat und 0.005 mol/L Dinatriumhydrogenphosphat in bidestilliertem Wasser und weist einen pH-Wert von etwa 6.3 auf. Die verwendeten Solventien werden vor der Herstellung der Probenlösungen über einen Cellulosenitrat-Filter mit einer Porengröße von 0.45 µm Porengröße unter vermindertem Druck filtriert.

Die Probenlösungen selbst werden, im Falle erkennbarer Schwebstoffe, mittels eines Spritzenaufsatzfilters der Firma Sartorius (Minisart® SRP15, PTFE, 0.45 µm Porengröße) filtriert.

Das Ansetzen der Kalibrationslösungen erfolgt analog.

4.5 Probenpräparation zur Analyse mittels PFG-NMR

Die Untersuchung der Diffusionseigenschaften der Polysaccharide mittels gepulster Feldgradienten-NMR erfolgt anhand von Lösungen in deuteriertem Wasser. Die Konzentration der Polymere wird dabei im Hinblick auf die resultierende Viskosität, der damit verbundenen Handhabbarkeit und der Spektrenauflösung gewählt und beträgt (falls nicht anders angegeben) 40 mg/mL im Fall von Dextran und Hyaluronat bzw. 60 mg/mL für Alginat. Die verwendeten Ansätze umfassen jeweils ein Volumen von 0.5 mL.

Die Zugabe der mehrwertigen Metallionen erfolgt für alle Proben in einem identischen Volumen von 12.8 µL der jeweiligen Salzlösung in gewünschter Konzentration in D₂O. Zum Zweck der Untersuchung der reinen Polysaccharidlösungen wird das Lösungsmittelvolumen um die entsprechende Menge erhöht.

Auf Grund der großen Lösungsviskosität und den damit verbundenen Problemen bei der Probenüberführung ins Analysenröhrchen, erfolgt die eigentliche Diffusionsmessung im Falle des Hyaluronats und des Alginats erst ca. 3-24 h nach der Probenpräparation bzw. dem Umfüllen der zu untersuchenden Lösung.

4.6 Probenpräparation zur Analyse mittels RV

In Anlehnung an vorhergehende Arbeiten, welche sich mit der Viskosität unterschiedlich konzentrierter Hyaluronat-, Dextran- und Xanthan-Lösungen in An- und Abwesenheit mehrwertiger Metallkationen auseinandersetzen, werden im Rahmen dieser Arbeit Alginat-Lösungen auf analogem Wege analysiert. Hierbei sollen die Wechselwirkungen der algalen Polysaccharidketten (unterschiedlicher mittlerer Molmassen) mit bivalenten Nickel-, Calcium-, Blei- und Bariumionen sowie trivalenten Chromionen untersucht werden.

Zur Messvorbereitung der rotationsviskosimetrischen Titrations werden der gewünschten Polymerkonzentrationen entsprechende Mengen Natriumalginat in 50 (Ni^{2+} -, Ca^{2+} -, Pb^{2+} -, Ba^{2+} -Messreihen) respektive 100 mL (Cr^{3+} -Messreihen) bidestilliertem Wasser gelöst. Im Falle der Wechselwirkungsuntersuchungen in Gegenwart der gewählten bivalenten Ionen wird sowohl aufgereinigtes als auch für 0.5 h beschalltes Natriumalginat verwendet. Für jedes zu betrachtende Kation werden vier bzw. fünf unterschiedlich konzentrierte Alginat-Lösungen angesetzt und, um ein vollständiges Lösen sicherzustellen, vor der Messung eine Stunde bei konstanter Temperatur ($25.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$) gerührt. Die Ausgangskonzentrationen der Polysaccharid- sowie Salzlösungen werden im Hinblick auf das zu erwartenden Ausmaß der Wechselwirkungen und Gelbildungsprozesse gewählt. Der Natriumalginat-Gehalt wird hierbei zwischen 0.05 und 1.5 mg/mL variiert, die Konzentration der ebenfalls auf bidestilliertem Wasser basierenden Salzlösungen liegt bei zwischen 0.0125 und 0.05 mol/L (vgl. Abschnitt 5.5.1, Tab. 18).

4.7 Verwendete Messgeräte und -parameter

4.7.1 Rasterkraftmikroskop (AFM)

Alle AFM-Messungen werden mit Hilfe eines Rasterkraftmikroskops des Typs „NanoWizard“ der Firma JPK Instruments und der zugehörigen Software durchgeführt. Um den Messprozess störende Vibrationen abzuschwächen bzw. auszuschalten findet zudem ein aktiver Schwingungsisolationsstisch „Micro 40“ der Halcyonics GmbH Verwendung.

Bei den verwendeten Silizium-Cantilevern handelt es sich um Non-Contact-/Intermittent-Contact-Mode-Cantilever des Typs „NanoWorld Pointprobe NCH“ der Firma NanoWorld. Die zugehörigen technischen Daten sind Tabelle 5 zu entnehmen. Die Spitzen am Cantileveren-

de haben eine Höhe von 10-15 μm und einen typischen Spitzenradius von weniger als 8 nm. Die Grundform der Messspitzen ist in Abbildung 26 c) dargestellt.

Tabelle 5: Technische Daten der verwendeten Cantilever.^[116]

| Technische Daten | Wert |
|-------------------|---------------------------|
| Dicke | $4.0 \pm 0.5 \mu\text{m}$ |
| Breite | $30 \pm 5 \mu\text{m}$ |
| Länge | $125 \pm 5 \mu\text{m}$ |
| Kraftkonstante | $42 \pm 36 \text{ N/m}$ |
| Resonanz-Frequenz | $320 \pm 70 \text{ kHz}$ |

Die Aufnahme der AFM-Bilder erfolgt im Intermittent-Contact-Mode. Die verwendete Scanrate wird der Topographie der abzubildenden Probe sowie der Bildgröße angepasst und liegt typischerweise zwischen 0.25 und 1 Hz.

Die Auswertung der resultierenden Abbildungen erfolgt mittels des Auswerteprogramms „JPK Image Processing“.

4.7.2 Konduktometer (CT)

Alle Leitfähigkeitsbestimmungen werden mittels eines „712 Konduktometer“ der Metrohm Schweiz AG durchgeführt. Die Messlösungen werden unter Zuhilfenahme eines Thermostaten „CT 1450“ von Schott auf 25.0°C ($\pm 0.2^\circ\text{C}$) unter Rühren temperiert. Die Zugabe der Salzlösungen erfolgt in Abhängigkeit von der Alginat-Konzentration in Schrittweiten von 25, 50 oder 100 μL via Einkanalpipette (vgl. Abschnitt 5.2.1, Tab. 11). Die Aufnahme der Messwerte erfolgt stets erst nach abgeschlossener Gleichgewichtseinstellung respektive konstanten Leitfähigkeitswerten. Die Anzahl an Messpunkten richtet sich nach dem jeweiligen Äquivalenzpunkt, umfasst allerdings stets ein Mindestmaß von 100 Zugaben.

Zwecks Berechnung der Leitfähigkeitsdifferenz $\Delta\kappa^*$ (vgl. Abschnitt 5.2.1) werden ebenfalls konduktometrische Titrations an deionisiertem Wasser in Abwesenheit von Polysaccharidmolekülen unter analoger Zugabe der Salzlösungen durchgeführt. Hierbei wird jeweils die kleinste Schrittweite der Messreihe als Zugabevolumen gewählt.

4.7.3 Gelpermeationschromatographische Anlage (GPC)

Die Molmassenbestimmung der Polysaccharide wird mit Hilfe einer GPC-Anlage der Firma Viscotek durchgeführt. Die Basis des Messaufbaus bilden die in Tabelle 6 aufgeführten Geräte.

Tabelle 6: Messtechnische Bestandteile der verwendeten GPC-Anlage.

| Gerät | Bezeichnung |
|--------------|---|
| Pumpe | Solvent Delivery System VE 1122, Viscotek |
| Entgaser | Degasser VE 7510, Viscotek |
| Injektor | Injector Valve Bracket VE 5111, Viscotek |
| RI-Detektor | RI-Detector VE 3580, Viscotek |
| Dualdetektor | 270 Dual Detector, Viscotek |

Des Weiteren erfolgt die Auftrennung der Polymere mittels dreier Säulen. Die zum Schutz der Haupttrennsäulen dienende Vorsäule (6 x 40 mm) des Typs „ViscoGel GMPWXL“ zeichnet sich dabei durch eine Porengröße von 12 μm aus. Die beiden nachfolgenden Säulen gleichen Typs (jeweils 6 x 300 mm) weisen Porengrößen zwischen 6 und 13 μm auf. Die Spektrenaufnahme erfolgt mittels Tripeldetektion, basierend auf Brechungsindex-, Viskositäts- und Streulichtdetektor. Die Messungen selbst und die Auswertung der aufgezeichneten Daten wird mit Hilfe der zugehörigen Software „OmniSEC 4.2“ der Firma Viscotek durchgeführt.

Die Kalibration der auf Wasserbasis durchgeführten Messungen erfolgt mit Hilfe der in Tabelle 7 aufgeführten Dextran-Standards der Firma Fluka.

Tabelle 7: Standards zur Kalibration der GPC-Anlage auf Wasserbasis.

| Standard-Bezeichnung | M_w [g/mol] |
|---|---------------|
| Fluka, BioChemica Dextran-Standard 1000 | 1270 |
| Fluka, BioChemica Dextran-Standard 5000 | 5220 |
| Fluka, BioChemica Dextran-Standard 25000 | 23800 |
| Fluka, BioChemica Dextran-Standard 50000 | 48600 |
| Fluka, BioChemica Dextran-Standard 410000 | 409800 |

Zur Kalibrierung des chromatographischen Systems auf Phosphatpuffer-Basis finden die in Tabelle 8 aufgelisteten Dextran- und Pullulan-Standards der Firma Viscotek Verwendung.

Tabelle 8: Standards zur Kalibration der GPC-Anlage auf Phosphatpufferbasis.

| Standard-Bezeichnung | M _w [g/mol] |
|--|------------------------|
| Viscotek, PolyCAL™ Dextran-Standard - T65K | 63400 |
| Viscotek, PolyCAL™ Pullulan-Standard – P130K | 129600 |

Für die Probeneingabe mittels des zugehörigen Injektors wird ein Minimalvolumen von 300 µL eingespritzt, um eine vollständige Füllung der Probenschleife, welche ein Volumen von 100 µL umfasst, zu gewährleisten. Alle Messungen der Polysaccharidlösungen erfolgen als Dreifachbestimmung, um Fehler durch stationäre Konzentrationsmaxima bzw. -minima zu verhindern.

4.7.4 Kernresonanzspektrometer (NMR)

Die Durchführung aller NMR-Experimente erfolgt mittels eines hochauflösenden Flüssigkeitsspektrometers des Typs „Avance DRX 500“ der Firma Bruker-BioSpin GmbH. Dieses Spektrometer ist ausgestattet mit einem „BAFPA-40“-Gradientenverstärker und einem „Diff30“-Probenkopf, welcher eine 5 mm-¹H-NMR-Spule beinhaltet. Das System verfügt über eine maximale Gradientenstärke von 12 T/m bei einer Gradientenpulslänge von bis zu 5 ms. Zur Gewährleistung minimaler Konvektionen innerhalb der Proben erfolgt eine Temperierung der Gradientenspule mittels externer Kühlwasserversorgung auf 25.0 ± 0.1°C. Zudem sollte eine maximale Füllhöhe der NMR-Röhrchen von ca. 25 mm eingehalten werden.

Die eigentlichen PFG-NMR-Experimente werden mit Hilfe der NMR-Software „X-Win NMR“ bzw. „Topspin 1.3“ und einem entsprechenden STE-Pulsprogramm der Firma Bruker realisiert, wobei die darin enthaltenen Parameter der jeweiligen Probe und ihren Charakteristika angepasst werden. Im Falle des Hyaluronats wird, falls nicht anders vermerkt, eine Diffusionszeit Δ von 350 ms, eine Gradientenpulslänge δ von 2 ms und eine maximale Gradientenstärke G von 700 G/cm gewählt. Bei den Messungen an Alginat und Dextran hingegen liegen die Diffusionszeiten bei 100 ms und die Gradientenpulslängen bei 2 ms. Für die Gradientenstärke wird für das Alginat, wenn nicht anders angegeben, ein Maximalwert von 600 G/cm gewählt, für Dextran ein Wert von 250 G/cm.

Alle PFG-NMR-Messungen werden mit jeweils 32 äquidistanten Gradientenschritten und 16 Scans je Schritt durchgeführt. Die Anzahl der Wiederholungen wird dabei zwischen 4 und 28 variiert.

Die Auswertung der erhaltenen ein- und zwei-dimensionalen Spektren erfolgt mit Hilfe der NMR-Software „Topspin 2.5.b“ der Firma Bruker. Die Diffusionsmessungen werden dabei hinsichtlich der über Integration ermittelten Signalintensitäten I anhand geeigneter Peaks ausgewertet und ggf. ein mittlerer Diffusionskoeffizient berechnet.

Auf der Basis der Werte der Signalintensitäten und der Ausgangssignalintensität I_0 erfolgt die vergleichende Auftragung der Einzelmessungen der Polysaccharide in An- und Abwesenheit mehrwertiger Ionen mittels Gleichung 35. Die Berechnungen und Auftragungen erfolgen mit Hilfe der Auswerteprogramme „Microcal Origin 8.1 G“, „Microcal Origin 8.6 G“, bzw. „Microsoft Excel 2003“.

4.7.5 Rotationsviskosimeter (RV)

Die rotationsviskosimetrischen Messungen werden mit Hilfe eines „Low Shear 40“-Viskosimeters der Firma Contraves und der zugehörigen messtechnischen Software durchgeführt.

Auf Grund der starken Temperaturabhängigkeit der Viskosität muss eine konstante Mess-temperatur gewährleistet sein. Aus diesem Grund erfolgt sowohl eine Vortemperierung der Probenlösung als auch eine Temperierung des rotationsviskosimetrischen Messsystems mittels eines mit Ethylenglykol befüllten Compact-Kältethermostaten „RM 6 T“ der Firma Lauda.

Vor Beginn jeder Titrationsreihe erfolgt ein Nullpunktabgleich des Systems auf der Basis von bidestilliertem Wasser. Des Weiteren wird der zugehörige Viskositätskoeffizient bestimmt, welcher im Falle des bidestillierten Wassers im Bereich zwischen 0.9 und 1.1 mPa·s liegen sollte.^[110] Wie auch im Verlauf der eigentlichen Messungen beinhaltet dieses Vorgehen eine Fünffachbestimmung mit einer angelegten Schergeschwindigkeit von 2 s^{-1} . Dabei wird nach jeder Einzelmessung der äußere Messzylinder gestoppt und für die darauffolgende erneut gestartet.

Für die rotationsviskosimetrischen Titrationsen der Natriumalginat-Lösungen werden zunächst etwa 4 mL der Ausgangspolysaccharidlösung in den Messzylinder überführt und wie oben beschrieben vermessen. Anschließend wird das Probenvolumen wieder zur Gesamtlösung gegeben und unter Rühren eine definierte Menge (50 oder 100 μL) der Lösung des zu betrachtenden Salzes zutitriert. Um eine abgeschlossene Gleichgewichtseinstellung garantieren zu können, wird zwischen erfolgter Salzzugabe und zugehöriger Viskositätsmessung eine Zeitspanne von mindestens drei Minuten eingehalten. Die Anzahl der Salzzugaben ori-

entiert sich an dem Eintreten der Gelierung des Gesamtsystems, ein Prozess, welcher das Fortsetzen der jeweiligen Messreihe erschwert bzw. inhibiert.

4.7.6 Weitere verwendete Geräte

Tabelle 9: Übersicht der weiteren verwendeten Geräte.

| Gerät | Hersteller, Bezeichnung |
|-------------------------|--|
| Analysenwaage | Sartorius, R160P |
| Analysenwaage | Sartorius, R300S |
| Auflichtstereomikroskop | Nikon, SMZ800 |
| Einkanalpipette | Eppendorf, variabel, 50-200 µL |
| Einkanalpipette | VWR, variabel, 0.5-10 µL |
| Einkanalpipette | VWR, variabel, 10-100 µL |
| Einkanalpipette | VWR, variabel, 100-1000 µL |
| Einkanalpipette | Brand, Transferpette®, variabel, 100-1000 µL |
| Kaltlichtquelle | Schott, KL 1500 LCD |
| Ultraschallgerät | Branson, Digital Sonifier® W-450 D |
| Vortex-Mixer | Scientific Industries, Vortex-Genie® 2 |
| Zentrifuge | Hettich, Universal 2 S |

4.8 Verwendete Chemikalien

Tabelle 10: Übersicht der verwendeten Chemikalien.

| Chemikalie | Bezugsquelle |
|---|--------------------|
| Bariumchlorid-Dihydrat, p. A. | Merck |
| Bleiacetat-Dihydrat, p. A. | Fluka |
| Calciumacetat, p. A. | Merck |
| Calciumchlorid-Hexahydrat, p. A. | Sigma-Aldrich |
| Cadmiumacetat-Dihydrat, p. A. | Fluka |
| Chrom(III)chlorid-Hexahydrat, p. A. | Fluka |
| Deuteriumoxid, 99.9 atom% D | Aldrich |
| Dextran, <i>Leuconostoc mesenteroides</i> | Sigma |
| Dinatriumhydrogenphosphat, p. A. | Merck |
| Ethanol, p. A. | KMF Optichem |
| Hellmanex | Hellma Analytics |
| Kaliumpermanganat | Riedel-de Haën |
| Magnesiumsulfat-Heptahydrat, p. A. | Riedel-de Haën |
| Natriumalginat (Manucol), aus Braunalgen | Fluka |
| Natriumalginat (Manucol), aus Braunalgen | Abbott Deutschland |
| Natriumchlorid, p. A. | Merck |
| Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat, p. A. | Merck |
| Natriumhyaluronat, <i>Streptococcus equi sp. zooepidemicus</i> | Sigma |
| Natriumnitrat, p. A. | Applichem |
| Nickelchlorid-Hexahydrat, p. A. | Alfa Aesar |
| 2-Propanol, p. A. | KMF Optichem |
| Uranylacetat-Dihydrat | Merck |
| Zinkacetat-Dihydrat, p. A. | Fluka |

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Ergebnisse der rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen (AFM)

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit steht die Untersuchung der Ausbildung chelatartiger Komplexe zwischen anionischen Polysacchariden (hier: Hyaluronat respektive Alginat) mit mehrwertigen Kationen als Resultat der auftretenden Wechselwirkungen zwischen diesen. Um die mit dieser Komplexbildung einhergehenden Konformationsänderungen zu analysieren, wurden rasterkraftmikroskopische Aufnahmen vereinzelter Polysaccharidmoleküle in An- und Abwesenheit von Bariumionen angefertigt. Analoge Untersuchungen werden an dem ungeladenen, bakteriellen Mehrfachzucker Dextran vorgenommen, welcher als Vergleichssubstanz dient, die zur Ausbildung entsprechender Komplexe nicht in der Lage ist.

Als Beweggrund für die Wahl eines Bariumsalzes als repräsentatives Beispiel im Zusammenhang mit den rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen lässt sich der Aspekt anführen, dass es sich bei Ba^{2+} -Ionen, mit einem Ionenradius von 134 pm, um die größten der zu untersuchenden, zweiwertigen Kationen handelt (vgl. Tab. 13, Abschnitt 5.2.1).^[121] Auf Basis der Ergebnisse vorhergehender Arbeiten ist davon auszugehen, dass die hier auftretenden Wechselwirkungen besonders ausgeprägt und demzufolge besonders gut zu identifizieren seien sollten.^[12] Die Präferenz der AFM gegenüber anderen bildgebenden, messtechnischen Verfahren, wie beispielsweise der Rasterelektronenmikroskopie, lässt sich dadurch begründen, dass so auf vorausgehende Probenbehandlungen (Aufbringen leitfähiger Beschichtungen etc.), welche möglicherweise das Erscheinungsbild der Polymerketten verändern und die Auflösung der Aufnahmen zusätzlich limitieren würden, verzichtet werden konnte.^[145]

Die Verwendung von Siliziumwafern als Substrat anstelle der generell für AFM-Analysen bevorzugten (glatteren) Micaoberflächen fußt auf der besseren Anhaftung der langkettigen Moleküle auf eben diesen. Hiermit verbunden sind gewisse Einschränkungen in der Genauigkeit in Bezug auf die Höheninformationswiedergabe; so zeigen die im Folgenden abgebildeten Höhenprofile oftmals geringfügig größere Probenhöhen als die Moleküle wirklich im Durchschnitt aufweisen, da auf Grund der Rauigkeit der Siliziumoberfläche Höhen unter 0.5 nm nur schwer wiedergegeben werden können. Dieser limitierende Faktor steht jedoch zurück, da auf diese Weise von der Verwendung von Probenzusätzen wie Magnesiumsalzen, die im Zuge anderer (AFM-)Untersuchungen häufig eingesetzt werden, um ein besseres Anhaften von Molekülen auf Substratoberflächen zu ermöglichen, abgesehen werden kann.^[146, 147] Eine solche Zugabe würde im Falle der hier durchgeführten Untersuchungen zu

Verfälschungen der Ergebnisse führen, da u. a. Aufnahmen in Abwesenheit mehrwertiger Ionen nicht möglich wären bzw. Konkurrenzionen eingebracht würden.

In den folgenden Abschnitten soll in vergleichender Weise auf die resultierenden rasterkraftmikroskopischen Abbilder der verschiedenen Polysaccharide im getrockneten Zustand auf Siliziumwafern aus gering konzentrierten Zuckerlösungen in Gegenwart und Abwesenheit von Bariumionen eingegangen werden. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt auf Grund der Anschaulichkeit in Form der Wiedergabe des ortabhängigen Errorsignals (vgl. Abb. 25 b)). Auf eine vollständige topographische Probenabbildung (wie in Abbildung 25 a) beispielhaft gezeigt), sprich die Illustration der relativen Höhendaten in Abhängigkeit von der Spitzenposition, soll aus Gründen des Umfangs verzichtet werden. Zur Darstellung der Probenhöhe werden gewählte Topographiedatenpunkte einer Messlinie (jeweils durch eine grüne Linie markiert, parallel zur Messrichtung entsprechend der „slow“-Achse) als Höhenprofil aufgetragen. Zusätzliche Bildausschnitte bestimmter Bereiche beinhalten, je nach Qualität, Ausschnittvergrößerungen des Errorsignals, des Phasenbildes oder dreidimensional dargestellte Höhendaten. In den folgenden Abschnitten 5.1.1 bis 5.1.3 werden jeweils nur repräsentative Beispielaufnahmen abgebildet, weitere Bilder sind dem Anhang zu entnehmen (Abb. A-4 bis A-22).

5.1.1 Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen an Dextran

Eine exemplarische rastkraftmikroskopische Aufnahme eines Dextranmoleküls in Abwesenheit mehrwertiger Kationen bzw. entsprechender Salze ist in Abbildung 54 dargestellt. Dem Bild ist zu entnehmen, dass das vorliegende Molekül in nahezu gestreckter Form vorliegt. Die Molekülhöhe, welche in erster Näherung als Durchmesser der vermessenen Struktur interpretiert werden kann, beträgt hier ca. 1 nm. Eventuelle Abweichungen der auf diese Weise ermittelten Werte vom realen Durchmesser sind u. a. durch aus dem Messprozess resultierende Deformierungen zu erklären. Auch mögliche Diskrepanzen auf Grund des verwendeten Substrats und der damit verbundenen Oberflächenrauigkeit gilt es zu berücksichtigen. Nichtsdestotrotz lässt sich auf der Basis dieses Höhenwertes annehmen, dass es sich bei der abgebildeten Struktur um eine Dextraneinzelkette handelt, ein Aspekt, welcher damit in Einklang zu bringen ist, dass Dextran nicht zur Ausbildung von Überstrukturen befähigt ist.^[148]

Das gestreckte Erscheinungsbild kann als mögliche Folge des Trocknungsprozesses verstanden werden. Dieser Prozess beinhaltet, dass eine isolierte Polymerkette (ggf. durch bereits vorhandene, punktuelle Anhaftung des Moleküls an der Substratoberfläche, anderen

Molekülen oder Verunreinigungen) durch die Bewegung der Tropfengrenzfläche gestreckt wird. Dieser Hergang wird auch als „molecular combing“ bezeichnet (Abb. 55).^[147]

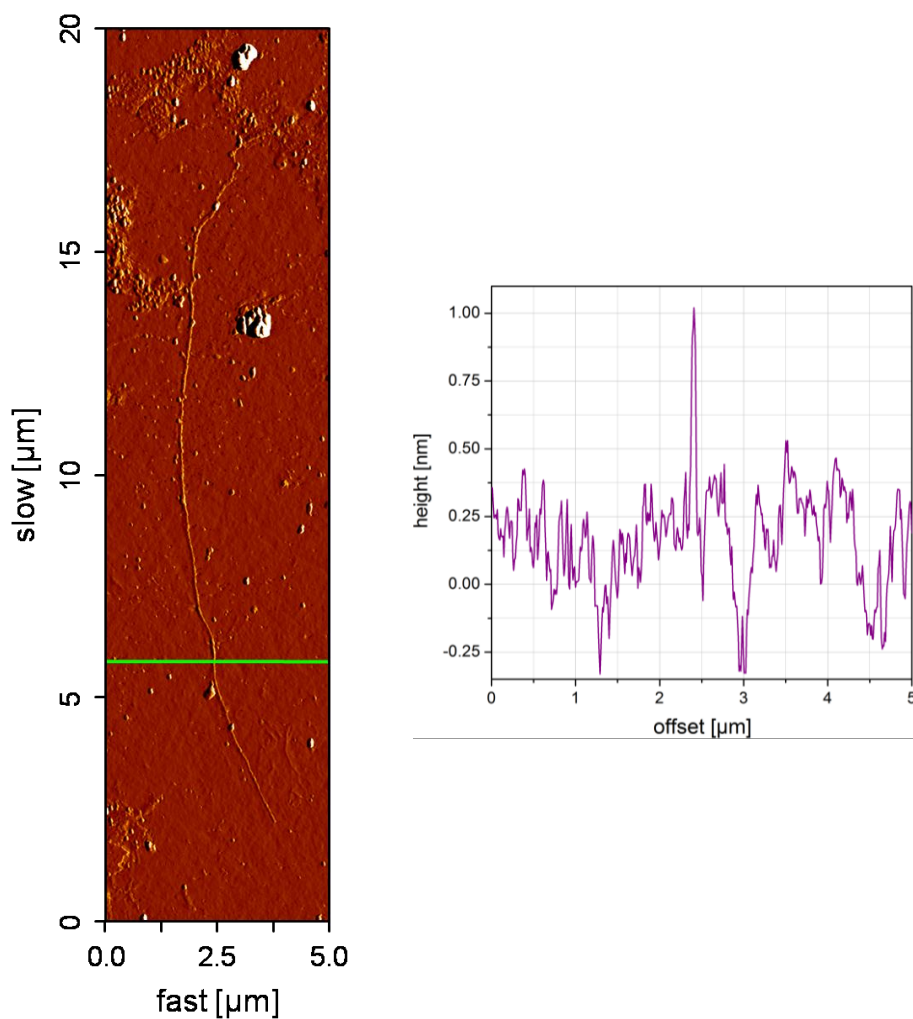


Abbildung 54: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

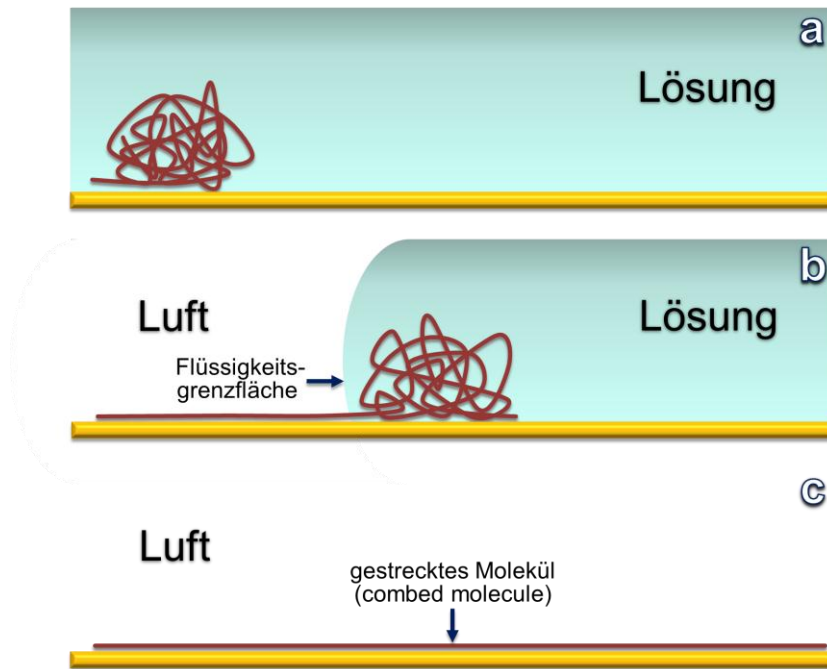


Abbildung 55: Schematische Darstellung des „molecular combing“-Vorgangs.

Das „molecular combing“ findet z. T. gezielten Einsatz, beispielsweise zur Streckung und anschließender Untersuchung langkettiger Moleküle wie Proteinen oder der DNA.

Ähnliche strukturelle Merkmale, wie sie in der zuvor erörterten Beispielabbildung zu finden sind, zeigen auch die folgenden AFM-Aufnahmen an analog präparierten Dextran-Proben (Abb. 56 und 57, Abb. A-4). Die gemessenen Höhen liegen hier etwa im Bereich zwischen 0.5 und 1.75 nm.

Als nachteilig erweist sich hier die aus der bildgebenden Messmethode resultierende Selektivität der wiedergegeben Moleküle und Strukturen. So würden zwar die Längen der dargestellten Polysaccharide zusammen mit der charakteristischen Länge einer Monomereinheit Schlüsse über die ungefähre Molmasse des verwendeten Dextrans zulassen, dennoch ist dies nur sehr beschränkt möglich. So ist zum einen die Anzahl der vermessenen Ketten nicht ausreichend groß, um repräsentative Ergebnisse zu erzielen. Des Weiteren werden durch die systembedingte Restriktion von Messbereich und Auflösung mit größerer Wahrscheinlichkeit längere bzw. einfach ersichtliche Biopolymerstrukturen gefunden und projiziert, deren Dimensionen deutlich vom Durchschnitt abweichen können.

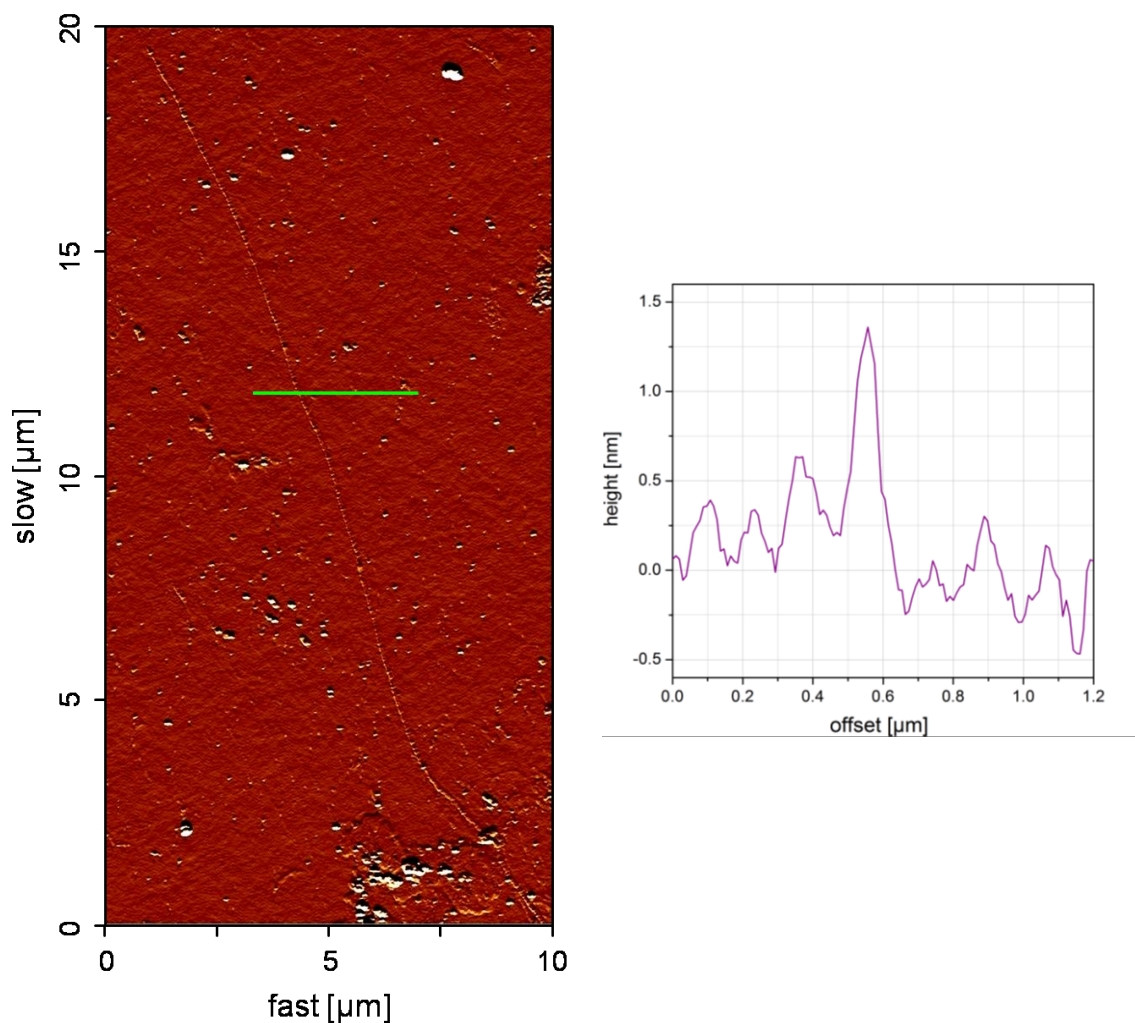


Abbildung 56: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Abbildung 57 zeigt darüber hinaus die (ggf. trocknungsbedingte) Anhaftung der Dextransketten aneinander bzw. an bereits vorhandener Verunreinigungen respektive die Anhaftung eben dieser an zuvor adhärennten Molekülen. Unter Umständen kann dies auch die Bildung von Schlaufen oder ähnlichen strukturellen Merkmalen nach sich ziehen, wie in der Ausschnittsvergrößerung verdeutlicht.

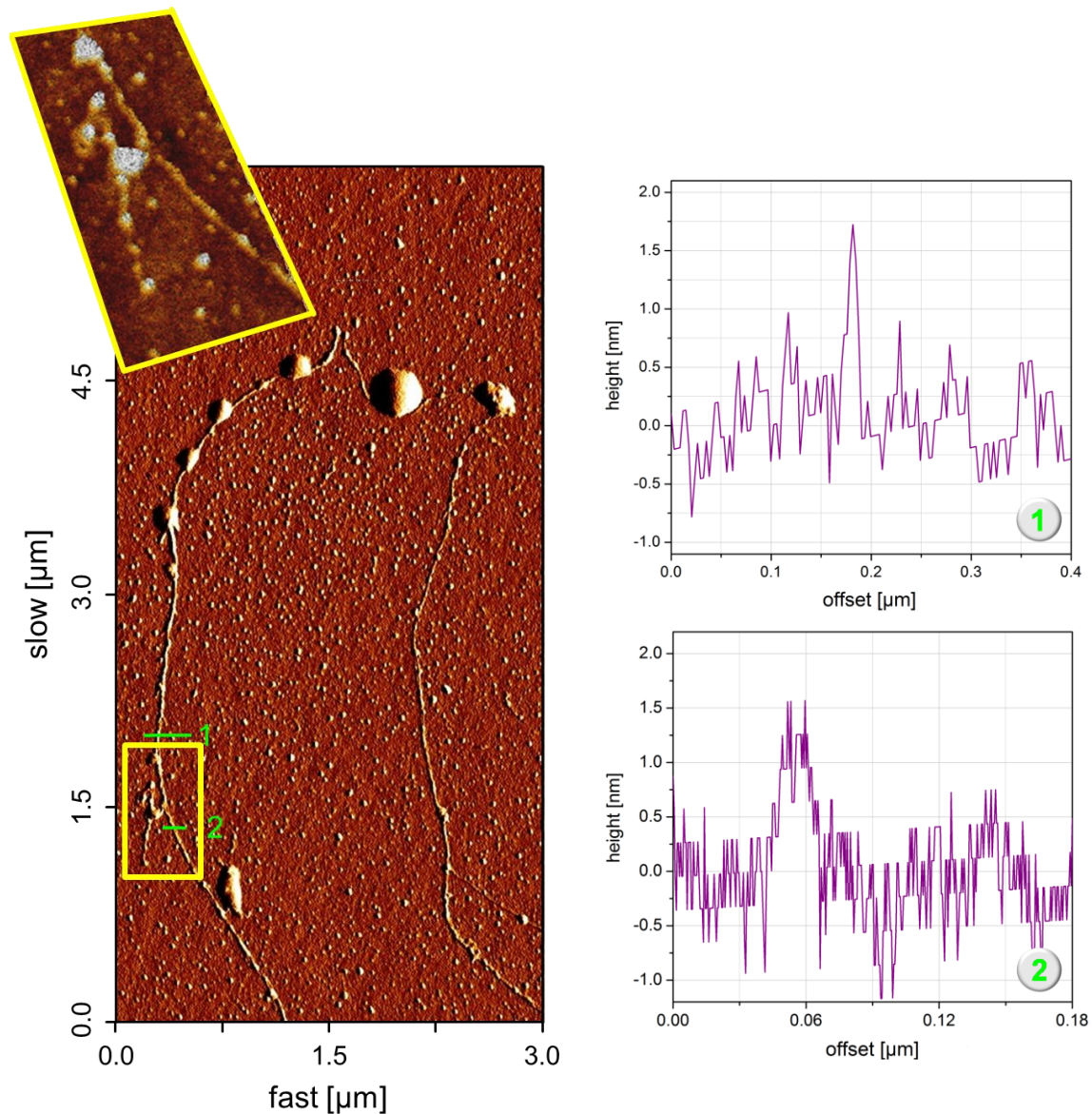


Abbildung 57: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium einschließlich Ausschnittsvergrößerung (Topographie) und zugehörigen Höhenprofilen in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Betrachtet man nun die rasterkraftmikroskopischen Messungen an Dextran in Gegenwart von Ba^{2+} -Ionen so findet man leichte Abweichungen von den zuvor gezeigten Ergebnissen. Zwar tritt das ungeladene Polysaccharidmolekül, in Ermangelung entsprechender funktioneller Gruppen, nicht in komplexbildender Weise mit den mehrwertigen Kationen in Wechselwirkung, nichtsdestotrotz treten auf Grund der Salzzugabe Veränderungen auf, wie aus den Abbildungen 58 bis 60 bzw. Abb. A-5 ersichtlich wird.

Abbildung 58 zeigt eine haarnadelähnliche Struktur, welche die Existenz von Überlappungen und Krümmungen des Dextrans bedingt. Das zugehörige Höhenprofil lässt auf Strukturdurchmesser von 1-2 nm schließen.

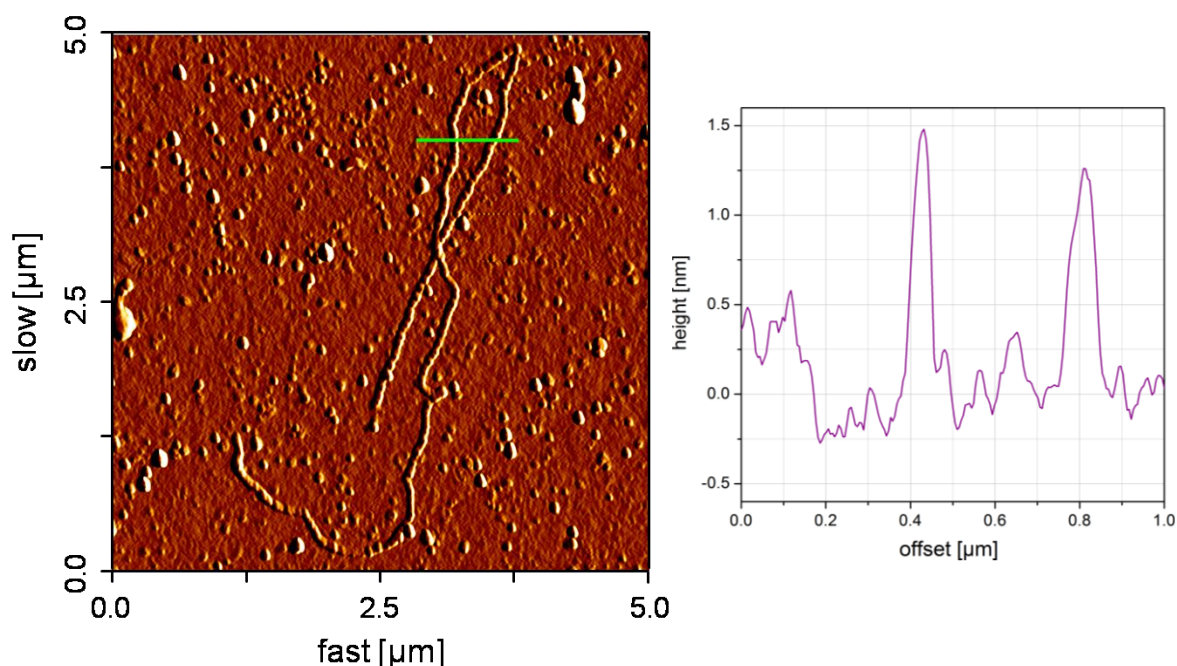


Abbildung 58: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Eine potentielle Erklärung für diesen Sachverhalt ist die Gegenwart von Salzkristallen bzw. deren Ablagerungen auf dem Siliziumträger als zusätzliche Anhaftungspunkte der Polymerketten. Diese Immobilisierung langkettiger Substanzen, wie z. B. DNA oder anderer Polysaccharidarten, macht man sich, wie bereits erwähnt, häufig in Form der Verwendung von Magnesiumchlorid zur Probenpräparation zu Zwecken rasterkraftmikroskopischer Analysen zunutze.^[146, 147, 149, 150]

Auch die folgenden AFM-Aufnahmen (Abb. 59/60 bzw. A-5) an Dextran in Anwesenheit zweiwertiger Kationen zeigen ähnliche Merkmale zum zuvor gezeigten Molekül. Neben relativ gestreckten Bereichen der illustrierten Strukturen findet man ebenso gewinkelte Kettenabschnitte. Die Höhenprofile der Polysaccharide lassen auf ungefähre Durchmesser zwischen 1.25 und 2.00 nm schließen. Diese Werte weichen nur unwesentlich von den zuvor in Abwesenheit von Bariumionen ermittelten Höhen ab, ein Aspekt, welcher darauf schließen lässt, dass keine Komplexbildungen oder ähnlich gravierende Veränderungen des Biopolymers auftreten.

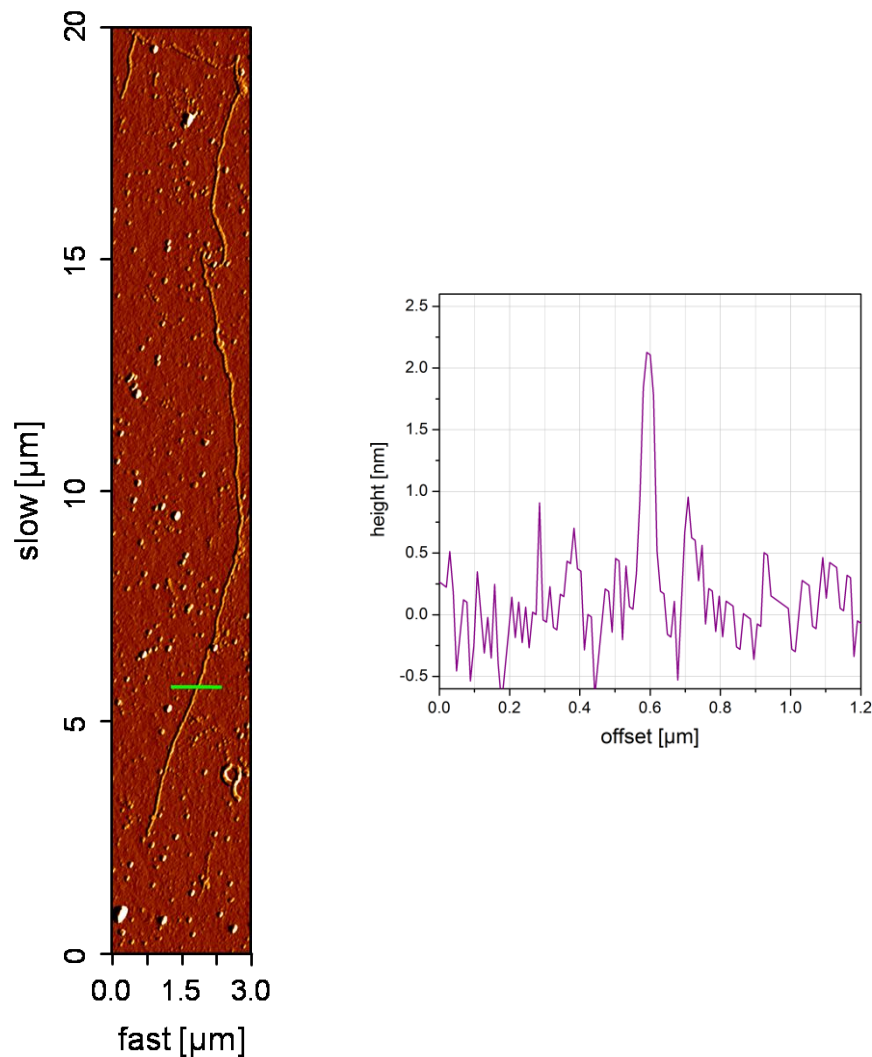


Abbildung 59: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Geringfügige Änderungen der Molekülhöhen infolge der Gegenwart einer gewissen Bariumchlorid-Menge im Vergleich zur lediglich Dextran enthaltenden Probe können hier dadurch erläutert werden, dass die Rauigkeit der Trägeroberfläche durch Salzablagerungen gesteigert und somit eine exakte Höhenangabe auf Basis der Topographiedaten erschwert wird. Auch veränderte Wechselwirkungsphänomene, sprich eine Zu- oder Abnahme der attraktiven sowie repulsiven Kräfte zwischen Messsonde und Probenoberfläche auf Grund der BaCl_2 -Zugabe, sind nicht auszuschließen und könnten sich in abweichenden Probenhöhen äußern.

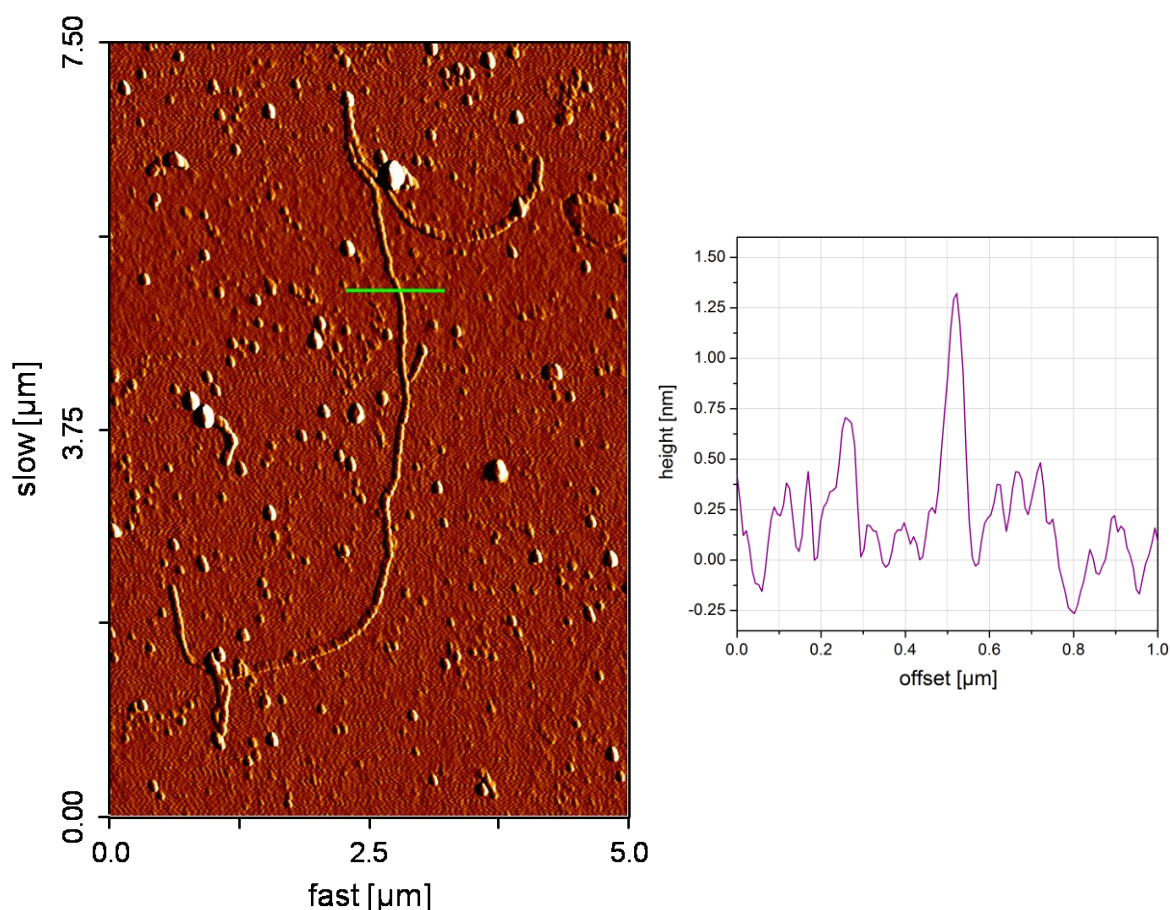


Abbildung 60: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Zum Zwecke der Überprüfung des Einflusses des Trocknungsprozesses auf das Polysaccharidverhalten bzw. zur Bestätigung der Nichtanbindung mehrwertiger Kationen durch die Polyose Dextran könnten weitere Untersuchungen auf der Basis entsprechender wässriger Dextran-Lösungen hilfreich sein. So bestätigen im Rahmen vorangegangener Arbeiten durchgeführte rotationsviskosimetrische sowie konduktometrische Analysen an relativ gering konzentrierten Polymerlösungen (0.5-3.0 mg/mL) die ausbleibende Komplexbildung mit bivalenten Metallkationen im Falle des Dextrans.^[12, 13] Um darüber hinaus eine eventuelle Konzentrationsabhängigkeit der Kationenassoziation ausschließen zu können, wurden im Verlauf dieser Arbeit kernresonanzspektroskopische Messungen an höher konzentrierten Polysaccharidlösungen (40-60 mg/mL) in D₂O vorgenommen (vgl. Abschnitt 5.4).

5.1.2 Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen an Hyaluronat

Betrachtet man in vergleichender Weise die zuvor erörterten AFM-Ergebnisse des Dextrans mit rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen an Natriumhyaluronatmolekülen im trockenen Zustand, so wird der Kontrast zwischen den neutralen und anionischen Polysacchariden und ihren strukturellen Charakteristika deutlich. Entsprechende AFM-Aufnahmen sind in Abb. 61-63 bzw. Abb. A-6 veranschaulicht.

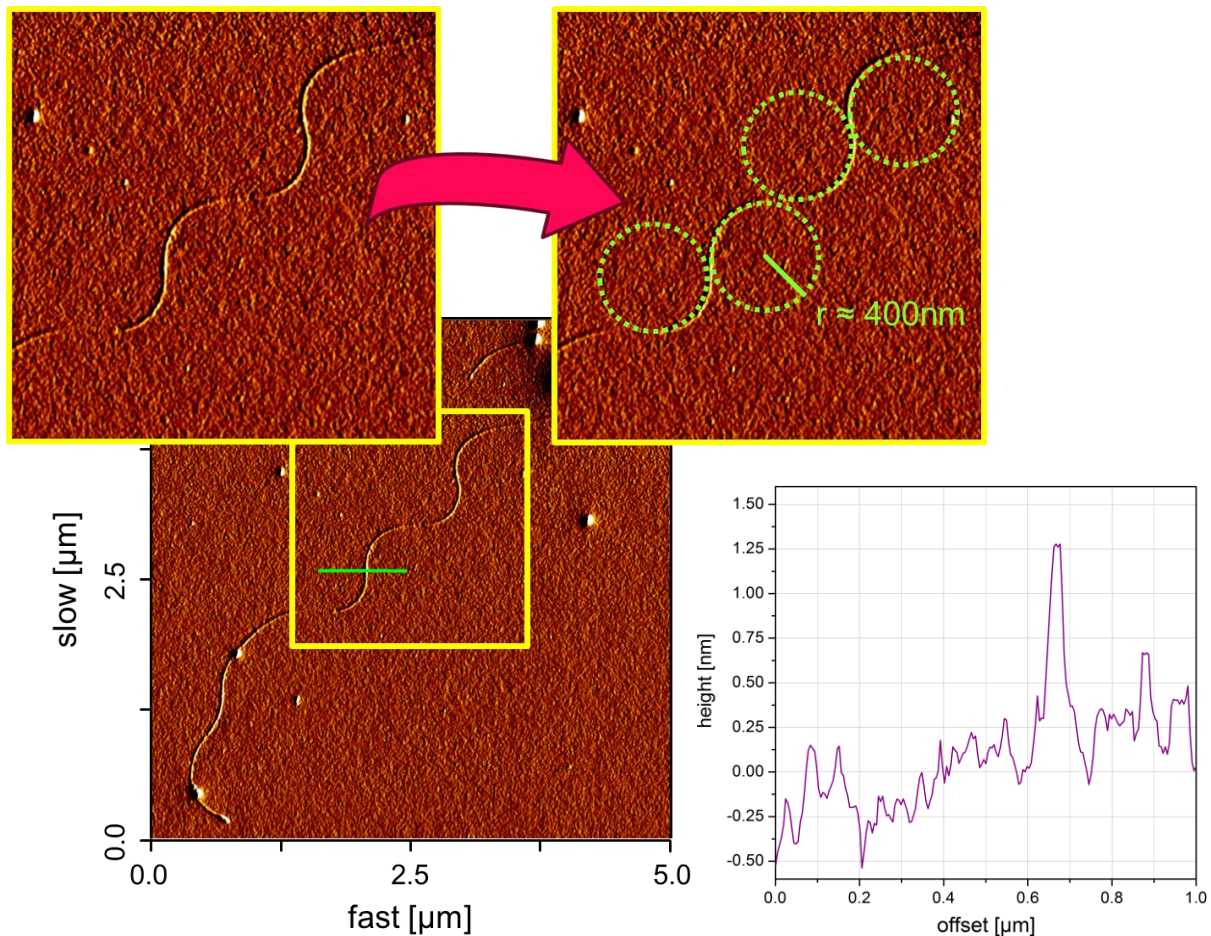


Abbildung 61: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium einschließlich Ausschnittsvergrößerung (zur Veranschaulichung des Krümmungsradius) und zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Auffällig an der obig dargestellten Hyaluronat-Aufnahme ist die (in allen Bildern zu findende) mäanderförmige Struktur der Polymerkette. Der damit einhergehende Krümmungsradius, welcher beispielhaft in der Ausschnittsvergrößerung von Abbildung 61 eingezeichnet ist, zeigt sich einheitlich und weist einen Wert von etwa 400 nm auf. Zurückzuführen ist dieses Erscheinungsmerkmal vermutlich auf die elektrostatischen Repulsivkräfte zwischen einzelnen Kettensegmenten. Diese Abstoßungskräfte innerhalb des Polysaccharids treten ebenso

in wässriger Lösung auf, sind dort allerdings auf Grund der gut solvatisierten Natriumionen partiell aufgehoben.

Die Höhen des in Abbildung 61 illustrierten Natriumhyaluronatmoleküls liegen im Bereich von etwa 1.00-1.25 nm, so dass auch hier, ähnlich wie bei Dextran, in Abwesenheit mehrwertiger Gegenionen Polymereinzelsstränge gefunden werden können. Abbildung 62 zeigt jedoch deutlich, dass es sich dabei nicht um die einzige gegenwärtige Erscheinungsform des Hyaluronats handelt.

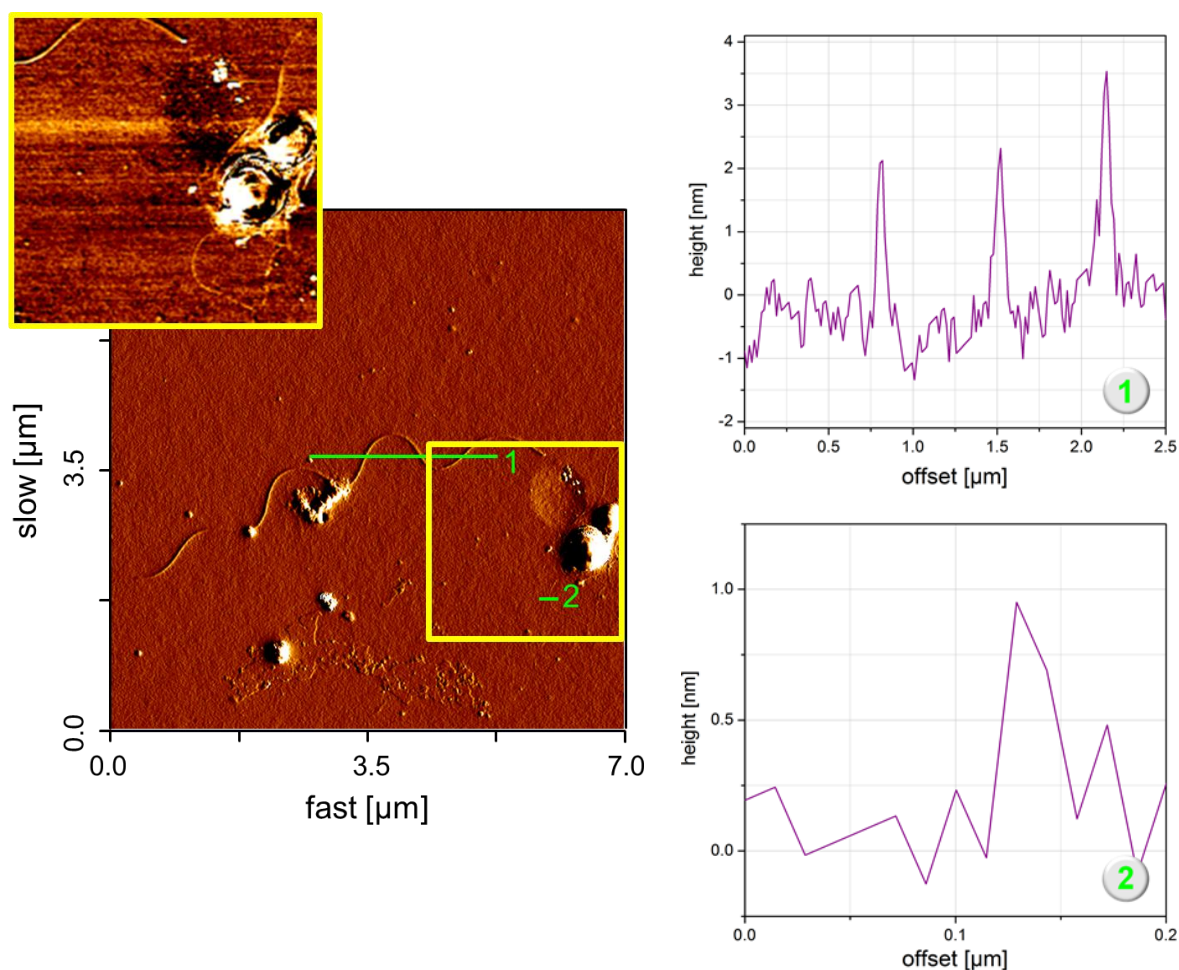


Abbildung 62: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium einschließlich Ausschnittsvergrößerung (Phase) und zugehörigen Höhenprofilen in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Neben einzeln vorliegenden Polymerketten (vgl. Abb. 62, Ausschnittsvergrößerung sowie Höhenprofil 2) finden sich hier auch Hyaluronatüberstrukturen, welche durch einen weitaus größeren Durchmesser von ca. 3 nm gekennzeichnet sind (Höhenprofil 1). Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um Doppelhelixstrukturen, welche bereits im Rahmen früherer Untersuchungen gefunden wurden.^[61, 62, 66] Entsprechend dieser Untersuchungen handelt es sich bei diesen übergeordneten Gefügen des Natriumsalzes der Hyaluronsäure um linkshändige,

anti-parallele Duplexstrukturen mit kontrahierter, vierfacher Helixsymmetrie.^[61, 62] Selbiges gilt ebenso in Gegenwart anderer monovalenter Gegenionen, wie K^+ , NH_4^+ , Rb^+ oder Cs^+ .^[62] Der sich ausbildende (konzentrationsabhängige) Komplex ist das Resultat intra- sowie intermolekularer Wechselwirkungen und beinhaltet Kettenfaltungs- sowie Assoziationerscheinungen, deren Stabilität u. a. auf extensive Wasserstoffbrücken zurückzuführen ist.^[61, 66] Zudem schließt die Duplexbildung des Polysaccharids die kernorientierte Positionierung seiner Carboxylgruppen im Bezug zur Gesamthelix ein, so dass selbige ebenfalls über elektrostatische Wechselwirkungen zur Stabilisierung des Gefüges beitragen.^[62, 66] Dieser Aspekt wird zudem durch die Antiparallelität der Ketten zueinander verstärkt bzw. überhaupt erst möglich. Es gilt auch zu erwähnen, dass sich die Hyaluronathelices als relativ stabil erweisen, ihre Beständigkeit jedoch nicht mit der der DNA oder ähnlichem vergleichbar ist; es handelt sich lediglich um ein temporär angeordnetes, metastabiles System dynamischer Natur, in welchem die Doppelhelixsegmente in wässriger Lösung fortwährend gebrochen und neu erstellt respektive reorganisiert werden.^[61, 62, 66] So führen Stimulationen, wie z. B. Variationen des Wasseranteils, des pH-Werts oder der Gegenionen zu Veränderungen der vorhandenen Strukturen.^[62] Die auftretende Transformation von der einfach- zur doppelhelicalen Form ist vor allem im Hinblick auf den biologischen Kontext des Hyaluronats und seiner physiologischen Bedeutung von Interesse, da diese spezielle Kettenkonformation und die damit einhergehenden Molekülversteifung den Ursprung der charakteristischen Eigenschaften des Polyanions in Wasser bzw. in physiologischem Milieu bilden. Hier ist beispielsweise das viskoelastische Verhalten von Hyaluronsäurederivaten in biologischen Flüssigkeiten zu nennen.^[66]

Auf Grund des zur AFM-Probenpräparation genutzten Trocknungsprozesses kommt es zu einer allmählichen Zunahme der Hyaluronat-Konzentration in der Analytlösung, so dass neben den bereits gezeigten Doppelhelixstrukturen infolge von darüber hinausreichender Polymerkettenassoziation auch weitaus größere Überstrukturen gefunden werden können. Ein Beispiel hierzu ist in Abb. 63 dargestellt. Diese beinhaltet Indizien für die Gegenwart einzelner vorliegender Polymerkettensegmente mit Höhen von ca. 1 nm (vgl. Ausschnittsvergrößerung sowie Höhenprofil 1 und 2), zeigt aber auch Probenbeschaffenheiten, welche durch einen weitaus größeren Durchmesser von etwa 9 nm gekennzeichnet sind (Höhenprofil 3).

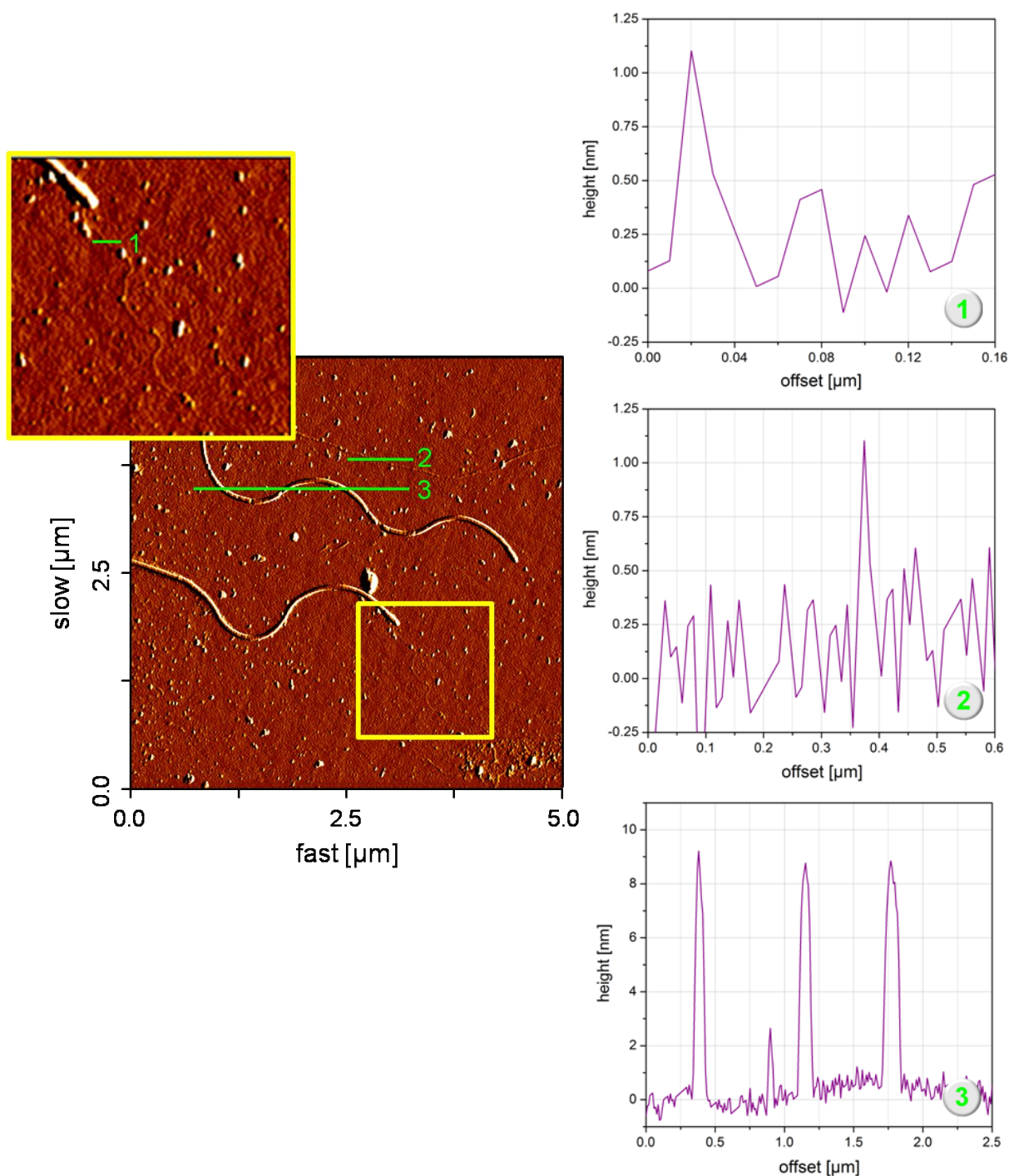


Abbildung 63: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium einschließlich Ausschnittsvergrößerung und zugehörigen Höhenprofilen in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Nimmt man Natriumhyaluronat-Proben in Gegenwart von Ba^{2+} -Ionen in Augenschein, so ist eine drastische Änderung der Polysaccharidbeschaffenheit bzw. -organisation im Vergleich zu den zuvor gezeigten Bildern zu erkennen (Abb. 64 bis 66 und Abb. A-7 bis A-9).

So umfasst Abbildung 64 beispielsweise eine netzwerkartige Struktur, deren Höhenprofil sich mit Werten zwischen 5 und 25 nm deutlich von den vorhergehenden Probenbeschaffenhei-

ten in Abwesenheit mehrwertiger Ionen abhebt. Dies lässt die Vermutung zu, dass die Hyaluronatmoleküle in dieser Situation zur Bildung weitaus größerer und stärker vernetzter intra- und intermolekularer Geflechte tendieren. Hierbei treten Kettenfaltungen und -„knicke“ mit sehr engen Krümmungsradien auf, welche in Absenz der bivalenten Bariumionen nicht zu beobachten waren. Die gesteigerten Höhen der dargestellten Stränge deuten darauf hin, dass es sich hierbei um mehrere Polysaccharidketten handelt, welche durch eine kooperative Kationenbindung miteinander verknüpft sind.

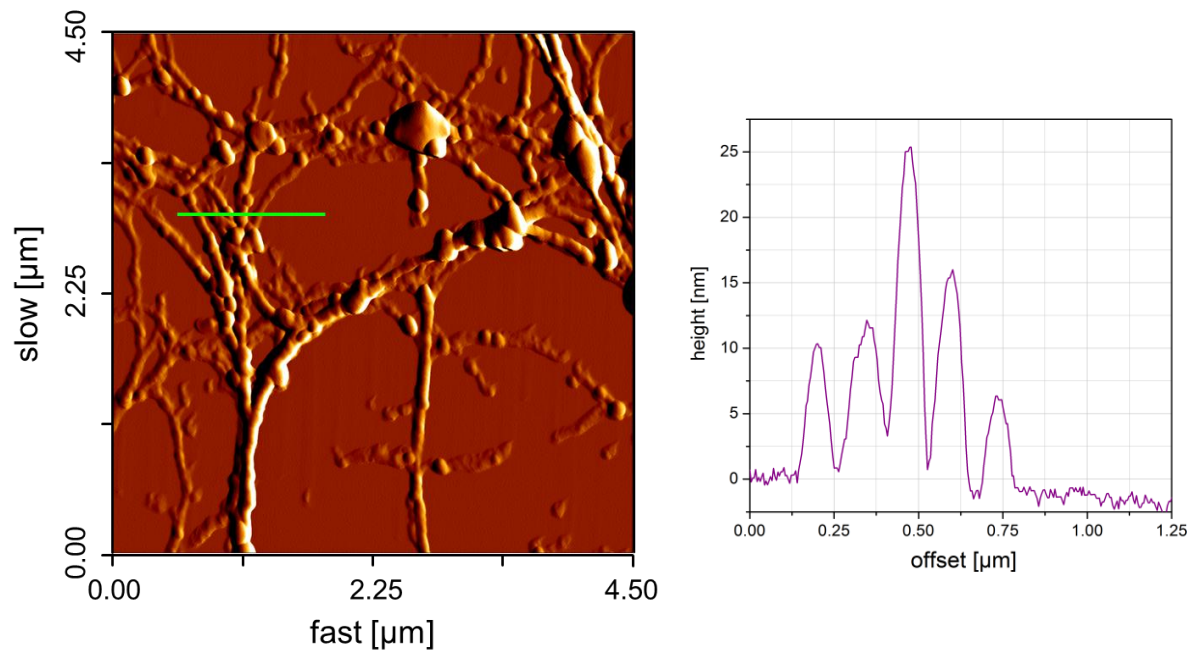


Abbildung 64: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Auch die folgenden AFM-Aufnahmen lassen ähnliche Rückschlüsse über das Verhalten der polyanionischen Zuckerketten in Gegenwart zweiwertiger Kationen zu. Zwar zeichnen sich die in Abb. 65 und 66 gezeigten Strukturen lediglich durch Höhen im Bereich zwischen 1.5 und 6 nm aus, nichtsdestotrotz sind auch hier deutlich die verminderten Krümmungswinkel sowie diverse Kettenüberlappungen und an Knoten-/Verknüpfungspunkte erinnernde Bereiche auszumachen.

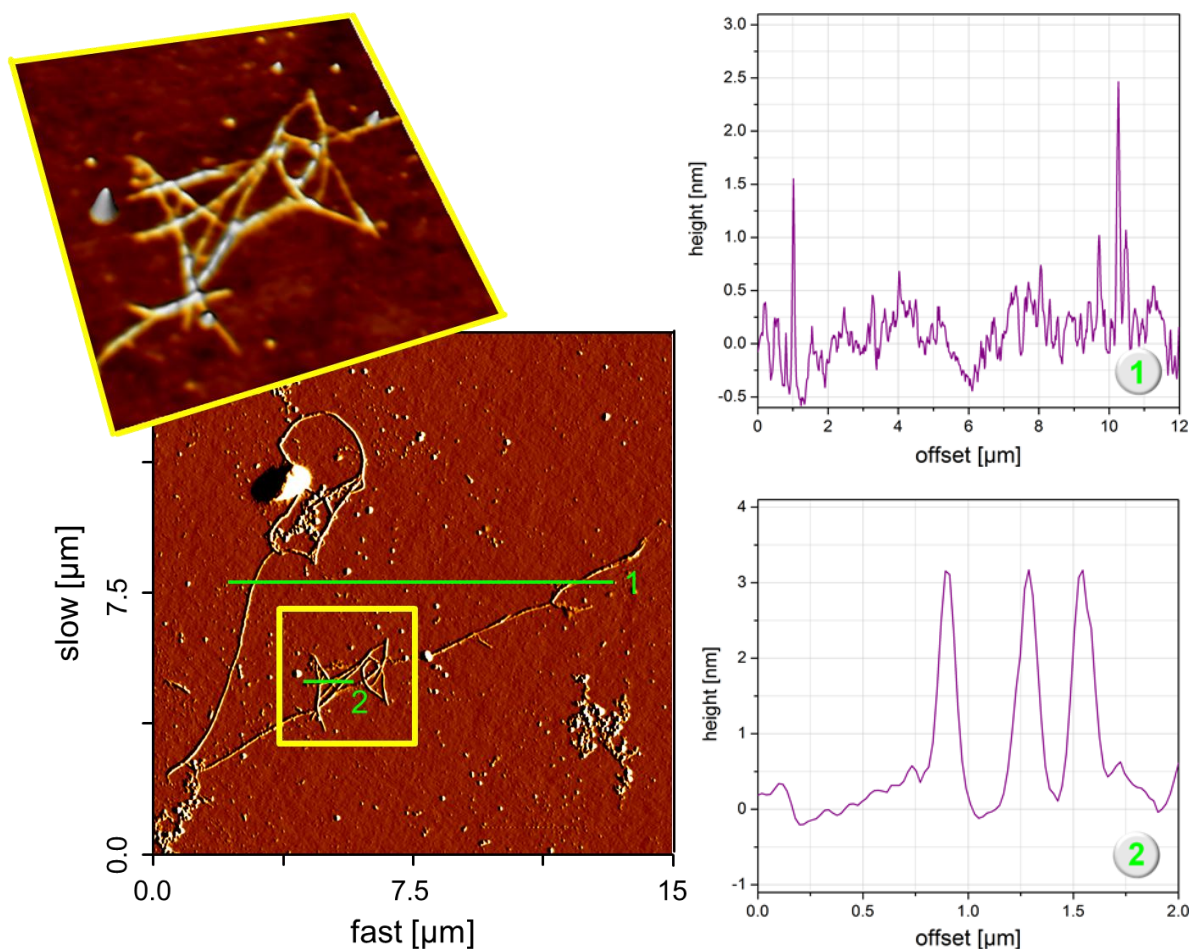


Abbildung 65: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Bereits im Rahmen früherer Arbeiten wurde festgestellt, dass in Gegenwart von Salzen bivalenter Kationen (M^{2+}), wie Strontium- oder Calciumionen, Verbrückungen der Polymerketten auftreten.^[60] Diese verbrückten Strukturen sind u. a. auf $\text{COO}^- \cdots M^{2+} \cdots \text{OOC}^-$ -Wechselwirkungen zurückzuführen. Des Weiteren geht mit der Anwesenheit der mehrwertigen Ionen (selbst im Falle geringer Salzkonzentrationen) eine Konformationsänderung einher, welche eine gestreckte, 3-fach-helicale Erscheinungsform des Hyaluronats begründet. Studien zeigten zudem, dass die Assoziation der zweiwertigen Ionen durch die polyanionischen Polysaccharidketten dabei selbst in Anwesenheit großer Mengen monovalenter Kationen bestehen bleibt und dass die gebundenen Domänen in Lösung sogar eine gewisse Stabilität gegen pH-Wert- und Temperaturänderungen aufweisen.^[60]

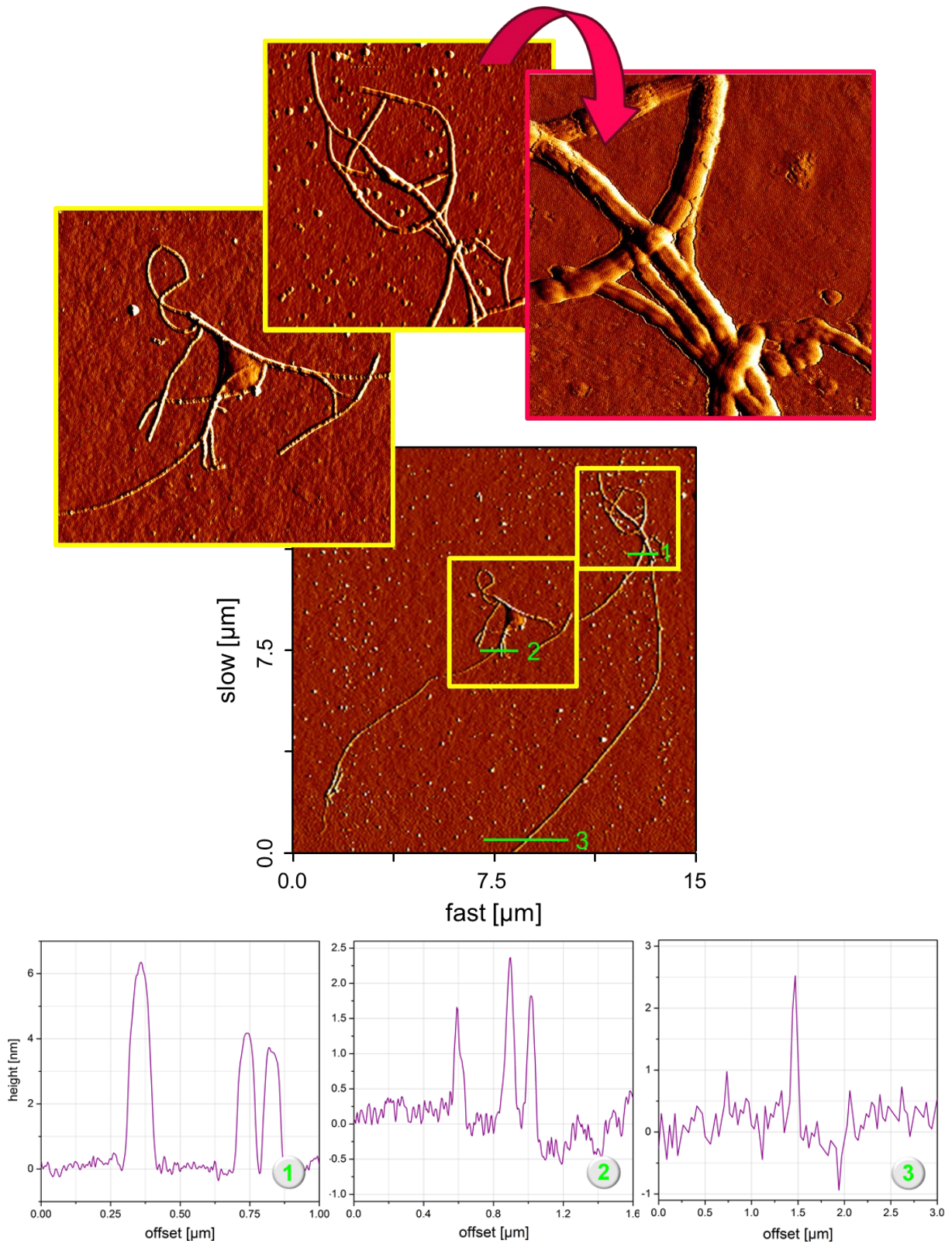


Abbildung 66: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium einschließlich Ausschnittsvergrößerungen sowie zugehörigen Höhenprofilen in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Die zugehörige Modellvorstellung der Bindung eines bivalenten Kations durch Hyaluronatmoleküle ist in Abbildung 67 wiedergegeben.

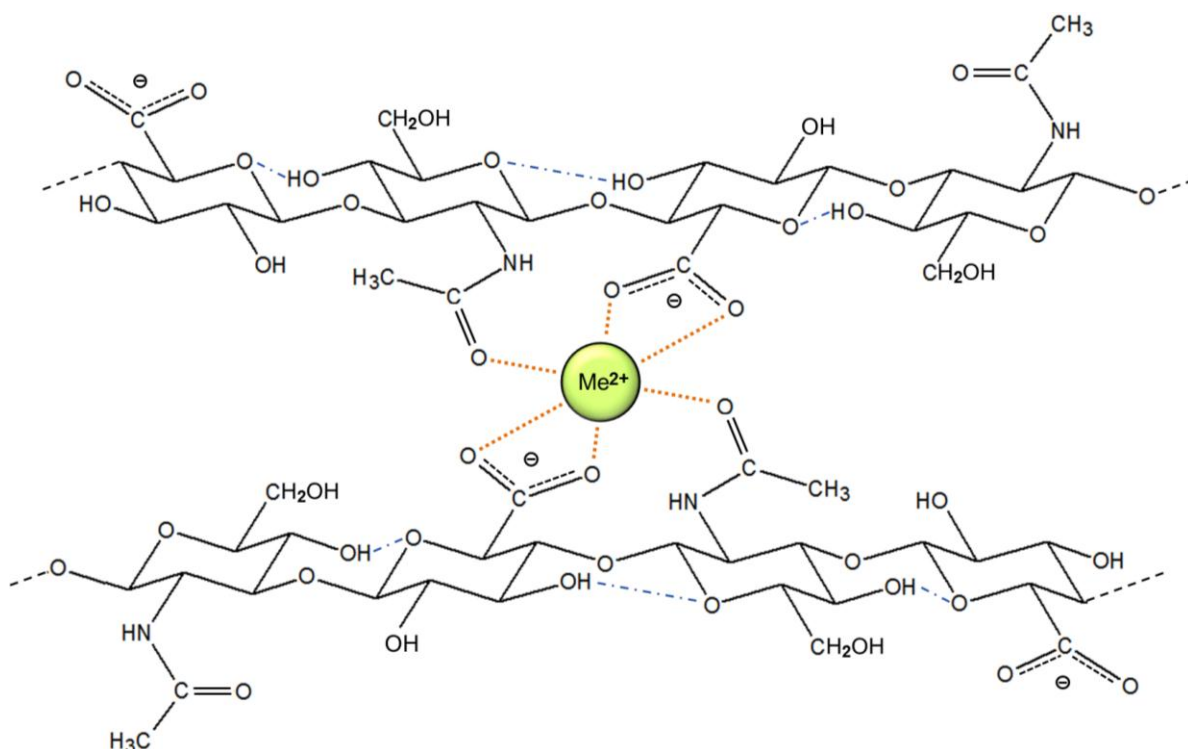


Abbildung 67: Modellvorstellung zur Bindung zweiwertiger Metallkationen durch Hyaluronateinheiten.^[nach 11]

Um weitestgehend ausschließen zu können, dass es sich bei den beobachteten Hyaluronatüberstrukturen lediglich um trocknungsbedingte Phänomene handelt, wurden, analog zum Dextran, weitere Untersuchungsmethoden angewandt, um das Verhalten des Polysaccharids gegenüber mehrwertigen Kationen auch in Lösung zu qualifizieren. Im Falle des Hyaluronats wurden entsprechende rotationsviskosimetrische sowie konduktometrische Analysen bereits im Zusammenhang früherer Arbeiten durchgeführt.^[12, 13] Die dortigen Ergebnisse bestätigen eine Anbindung von zweiwertigen Metallkationen durch das polyanionische Hyaluronat. Hierbei wurde im Polymerkonzentrationsbereich von 0.5-3.0 mg/mL ein nahezu konstantes Kation-Monomer-Verhältnis gefunden, ein Aspekt, welcher gegen das Vorliegen intra- sowie intermolekularer Wechselwirkungen sprechen würde, da sonst eine gewisse Abhängigkeit von der Polymerkonzentration zu beobachten sein müsste. Um die eventuelle Konzentrationsabhängigkeit der kooperativen Kationenassoziation durch mehrere Hyaluronatmoleküle überprüfen zu können, wurden im Rahmen dieser Arbeit kernresonanzspektroskopische Messungen an höher konzentrierten Biopolymerlösungen (10-40 mg/mL) in D₂O vorgenommen (vgl. Abschnitt 5.4).

5.1.3 Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen an Alginat

Zur Veranschaulichung der AFM-Ergebnisse der Analyse von Natriumalginatmolekülen im getrockneten Zustand in Abwesenheit mehrwertiger Kationen ist eine exemplarische Aufnahme einer entsprechenden Polymerstruktur in Abbildung 68 dargestellt.

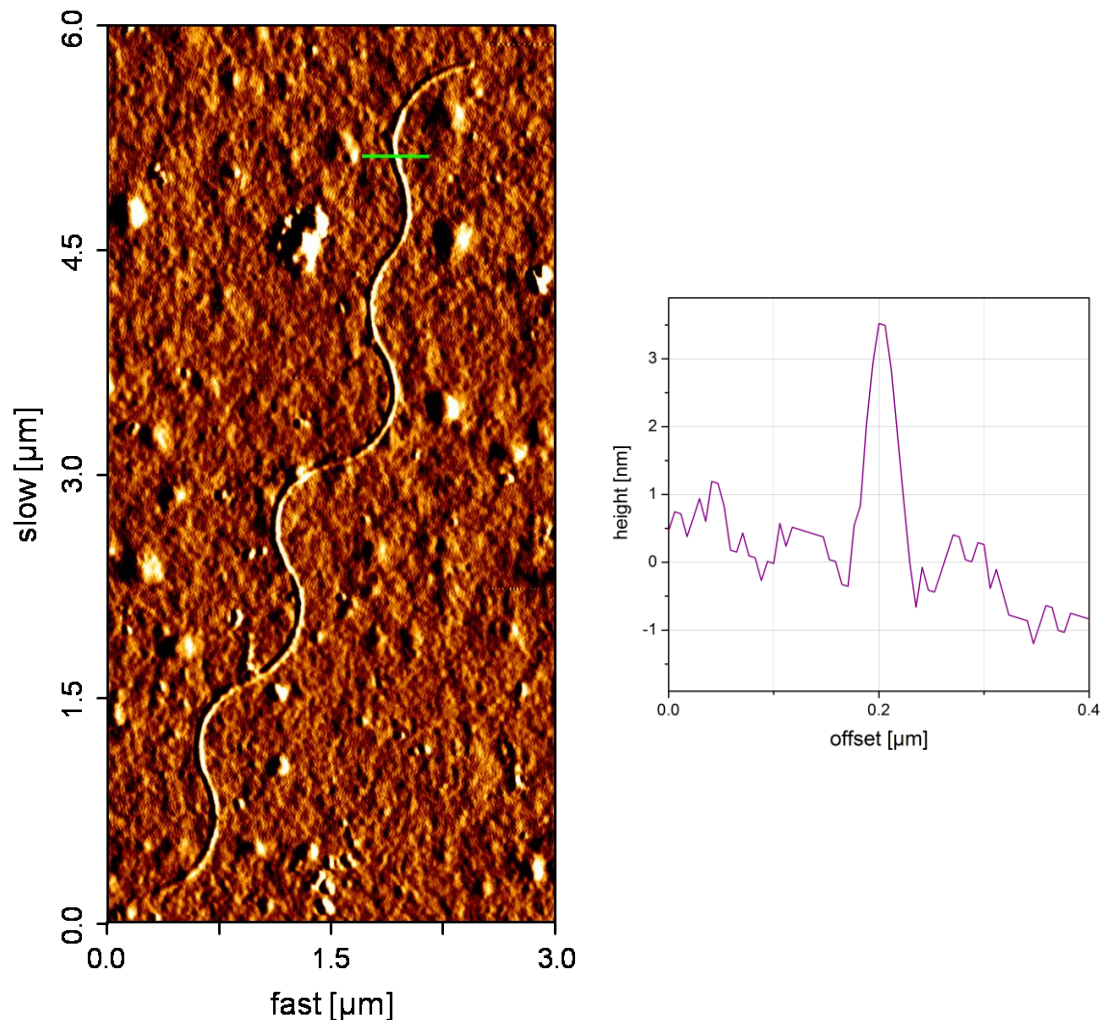


Abbildung 68: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Der Illustration ist zu entnehmen, dass die vorliegende Alginatkette in einer dem Natriumhyaluronat ähnelnden, mäanderförmigen Organisation vorliegt. Der mit dieser Kettengestalt verbundene Krümmungsradius erweist sich auch hier als relativ einheitlich. Die zugehörigen Werte liegen etwa zwischen 400 und 500 nm und spiegeln sich auch in den folgenden Abbildungen wider (Abb. 69 bis 71 bzw. Abb. A-10 bis A-16). Der Ursprung dieses Erscheinungsmerkmals liegt wahrscheinlich in elektrostatischen Abstoßungskräften zwischen den einzelnen Kettensegmenten begründet. Diese Repulsivkräfte innerhalb einzelner Polysac-

charidmoleküle treten vermutlich ebenso wie im Falle des Hyaluronats in wässriger Lösung auf, sind dort allerdings auf Grund der gut solvatisierten Natriumionen partiell aufgehoben.

Die durchschnittliche Höhe des in Abbildung 68 dargestellten Natriumalginats liegt bei ca. 3 nm. Dieser Wert legt die Anwesenheit einer Überstruktur nahe, ähnlich der in Abschnitt 5.1.2 diskutierten Anordnungen im Falle des Polysaccharids Hyaluronat.

Die rasterkraftmikroskopisch bestimmten Höhen der folgenden Aufnahme (Abb. 69) sind im Bereich unter 1 nm anzusiedeln und somit als Hinweis auf die Gegenwart eines einzeln vorliegenden Alginatstranges zu interpretieren. Auch in diesem AFM-Bild ist deutlich die wellenartige Erscheinungsform des betrachteten Moleküls erkennbar, deren Krümmungsradien mit denen anderer vermessener Natriumalginatketten vergleichbar sind.

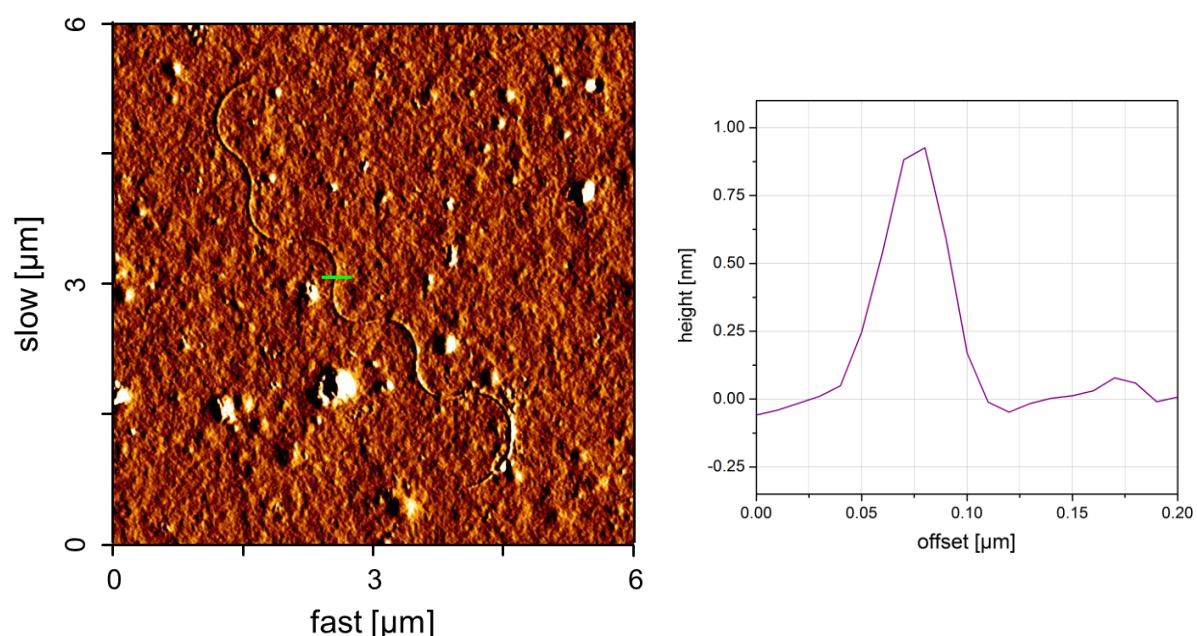


Abbildung 69: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Entsprechendes gilt für die in Abbildung 70 wiedergegebenen Strukturen, deren Höhen in der Größenordnung von 1-2 nm anzusiedeln sind. Hier ist vor allem die vergleichsweise beträchtliche Kettenlänge zu bemerken, welche als Hinweis auf einen großen Polymerisationsgrad bzw. eine hohe Molmasse angesehen werden kann. Dieser Aspekt lässt Rückschlüsse auf die Polydispersität der für die rasterkraftmikroskopischen Analysen verwendeten Natriumalginat-Proben zu, da diese alle über den gleichen Zeitraum mit Ultraschall behandelt wurden und somit die gleiche durchschnittliche Molmasse aufweisen sollten (entsprechend GPC-Untersuchungen: etwa 140000 g/mol). Die dennoch variierenden Kettenlängen und die somit augenscheinliche Polydispersität der Biopolymere erweist sich besonders im Hinblick auf die Bestimmung der Diffusionskoeffizienten der Polysaccharidproben mittels PFG-NMR

als hinderlich, da hier auf Grund ihrer Molmassenverteilung kein genauer, für alle enthaltenen Moleküle gültiger Wert definiert werden kann.

Der obige Gesichtspunkt verdeutlicht allerdings auch das Potential der atomaren Kraftmikroskopie bezogen auf eine umfassende Probencharakterisierung. So wäre es möglich im Falle einer ausreichend großen und repräsentativen Zahl an Aufnahmen an Polymereinketten (in Abwesenheit von Überstrukturen) auf Basis bekannter Monomereinheitsdimensionen und vermessener Kettenlängen Abschätzungen bezüglich der mittleren Molmasse anzustellen.

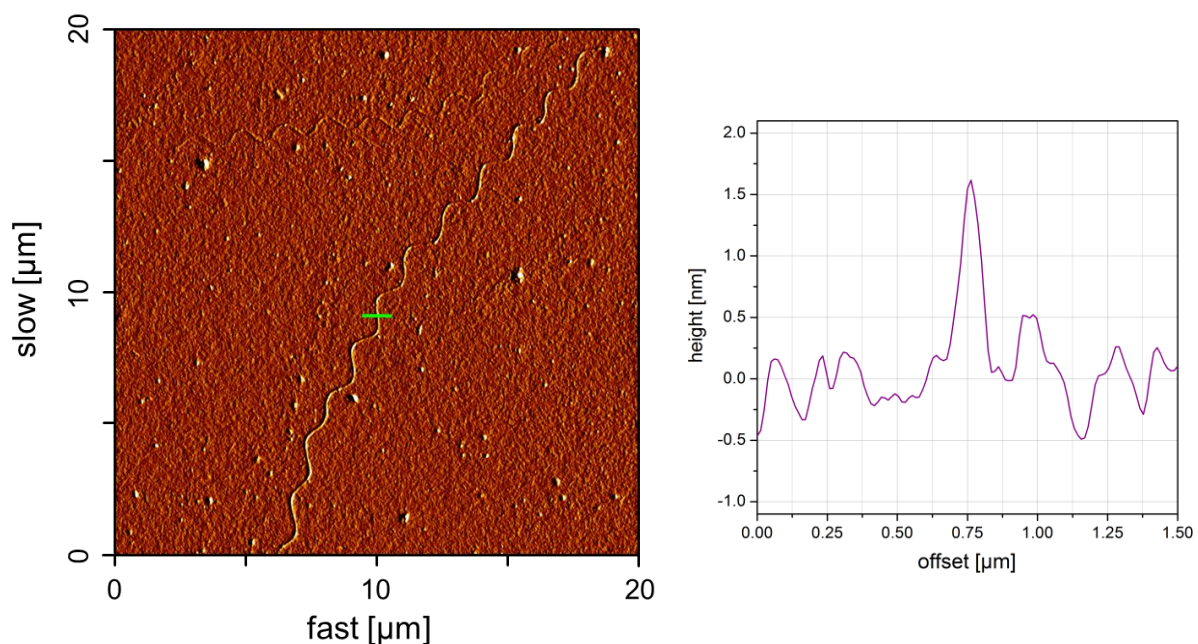


Abbildung 70: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Abbildung 71 (ebenso Abb. A-14) zeigt ein weiteres potentiell Erscheinungsbild eines Alginatmoleküls auf einer Siliziumoberfläche in Lösungsmittelabsenz. So ist hier nicht zuletzt auf Grund der geringen Kettenlänge eine nahezu kreisförmige Struktur erkennbar. Diese Organisation ist sowohl auf die elektrostatischen Abstoßungskräfte zwischen den einzelnen Segmenten des Polyanions als auch auf den Trocknungsprozess und die dadurch bedingten potentiellen Kettenüberlappungen zurückzuführen. Das Höhenprofil der sich nicht überlagernden Molekülbereiche weist auf Werte von ca. 3 nm hin.

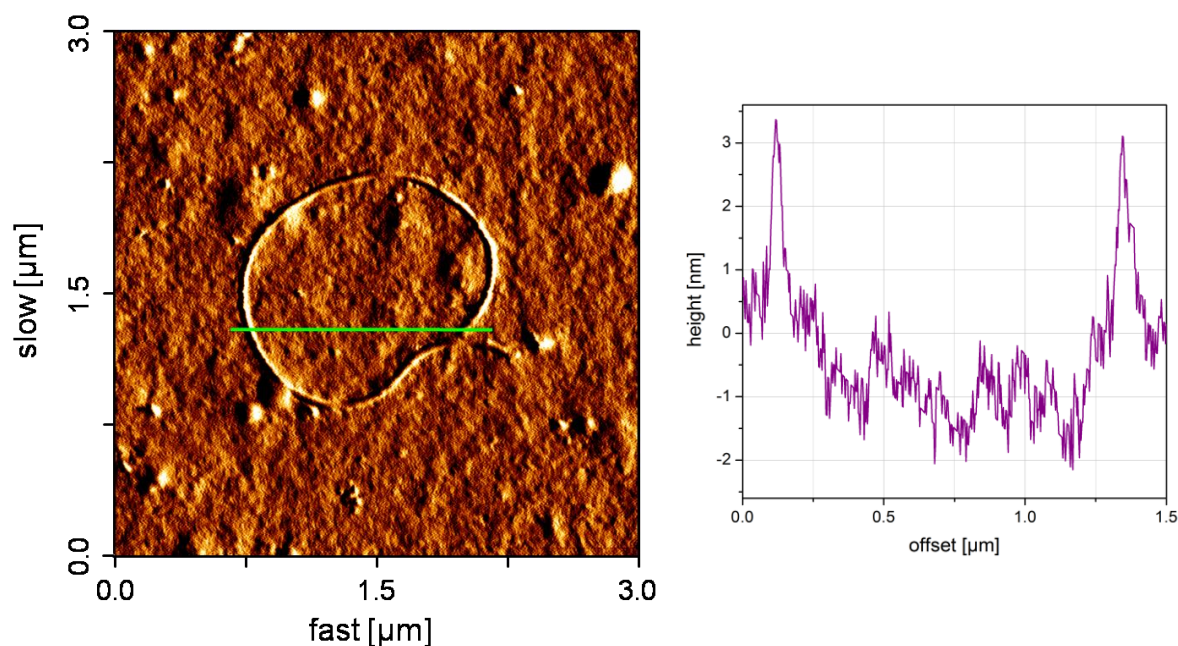


Abbildung 71: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Ionen.

Betrachtet man Alginatmoleküle, die aus einer wässrigen, bariumchloridhaltigen Lösung auf das Substrat aufgebracht wurden, so erhält man ein sich von den vorherigen Aufnahmen abhebendes Bild, wie in Abbildung 72 ersichtlich (vgl. ebenso Abb. A-17 bis A-21). Es zeigt sich im mittleren Bereich des Errorsignal-Bildes eine nahezu seilartige Struktur mit mehreren scheinbar parallelen, untereinander verbundenen Polymermolekülen. Dieser Organisationsaspekt ist im Einklang mit der Komplexierung der bivalenten Bariumionen einhergehend mit der parallelen Aggregation mehrerer, dem egg-box-Modell entsprechender Polysacchariddimere (vgl. Abschnitt 2.2.3, Abb. 17).

Im oberen Bildabschnitt von Abbildung 72 hingegen findet man ein eher netzwerkartiges Gefüge der Moleküle des algalen Alginats, ein Gesichtspunkt welcher wiederum für ein abweichendes Kation-Monomer-Verhältnis im Vergleich zur Bildmitte spricht. Dieses Erscheinungsmerkmal spricht für die äußere Kationabsättigung der sich ausbildenden Dimere, konform mit der in Abbildung 17 dargestellten half-egg-box-Struktur. Die korrespondierenden Höhen im oberen Bildbereich liegen hierbei deutlich über denen einfacher Polymerketten (>4 nm).

Auf Grund der vergleichsweise niedrigen Ausgangspolymerkonzentration in der AFM-Probenlösung ist die Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung größerer Systeme paralleler, intermolekular verbrückter Moleküle bzw. Kettenteile zwar relativ gering, sie wird aber durch den Trocknungsprozess enorm erhöht, wodurch sich die Bildung der erhaltenen Strukturen respektive Zusammenschlüsse begründen lässt.

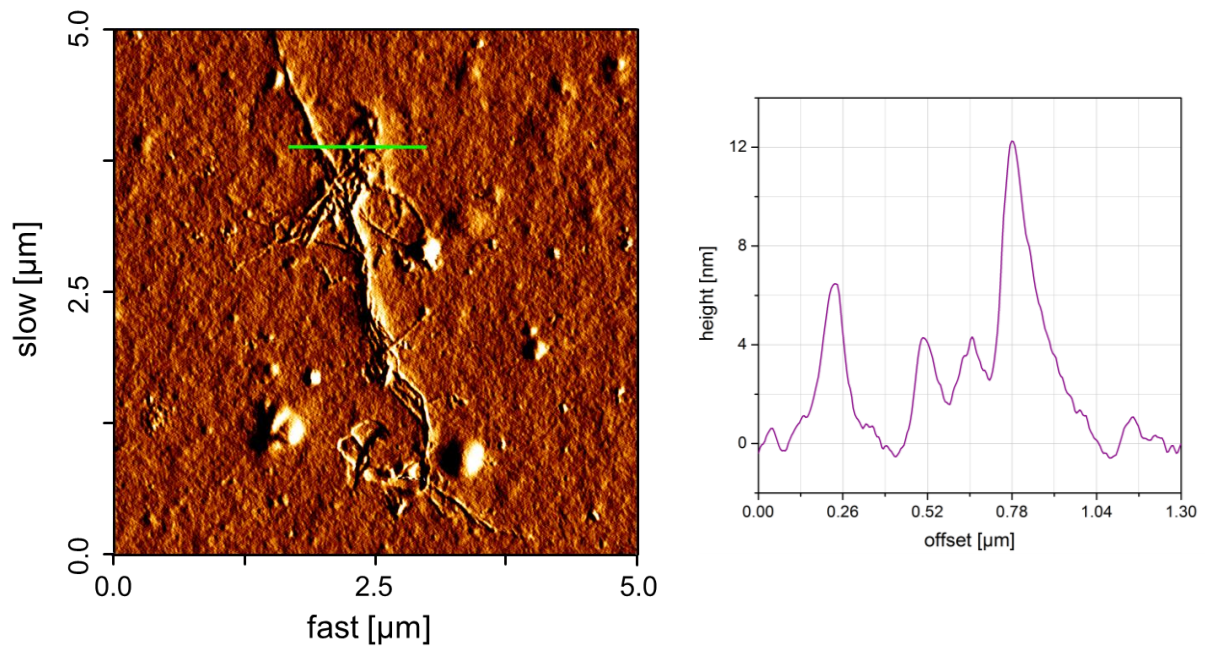


Abbildung 72: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Auch die folgende rasterkraftmikroskopische Aufnahme (Abb. 73) liefert ein ähnliches Bild, wobei hier netzwerkartige Erscheinungsmerkmale überwiegen und die Anbindung der Bariumionen durch die Polymerketten untermauern. Die zugehörigen Höhenprofile der Aufnahme lassen auf durchschnittliche Strukturhöhen von ca. 4 nm schließen.

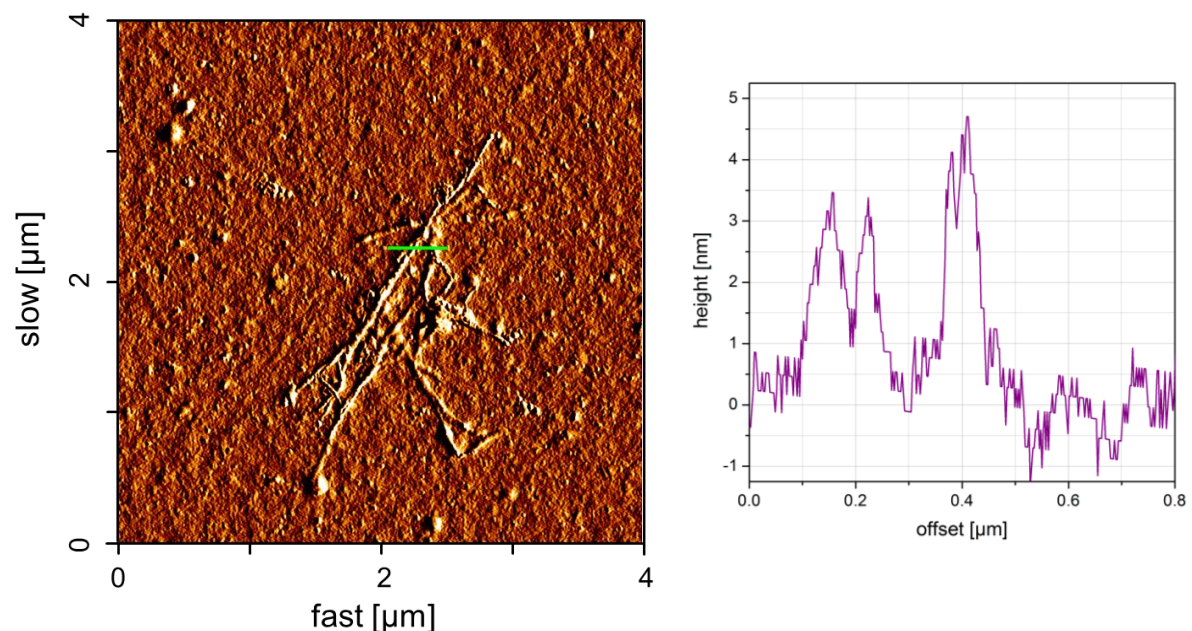


Abbildung 73: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Eine eher verdrehte, seilähnliche Beschaffenheit, analog zum mittleren Strukturbereich in Abb. 72, findet sich in folgender Darstellung (Abb. 74).

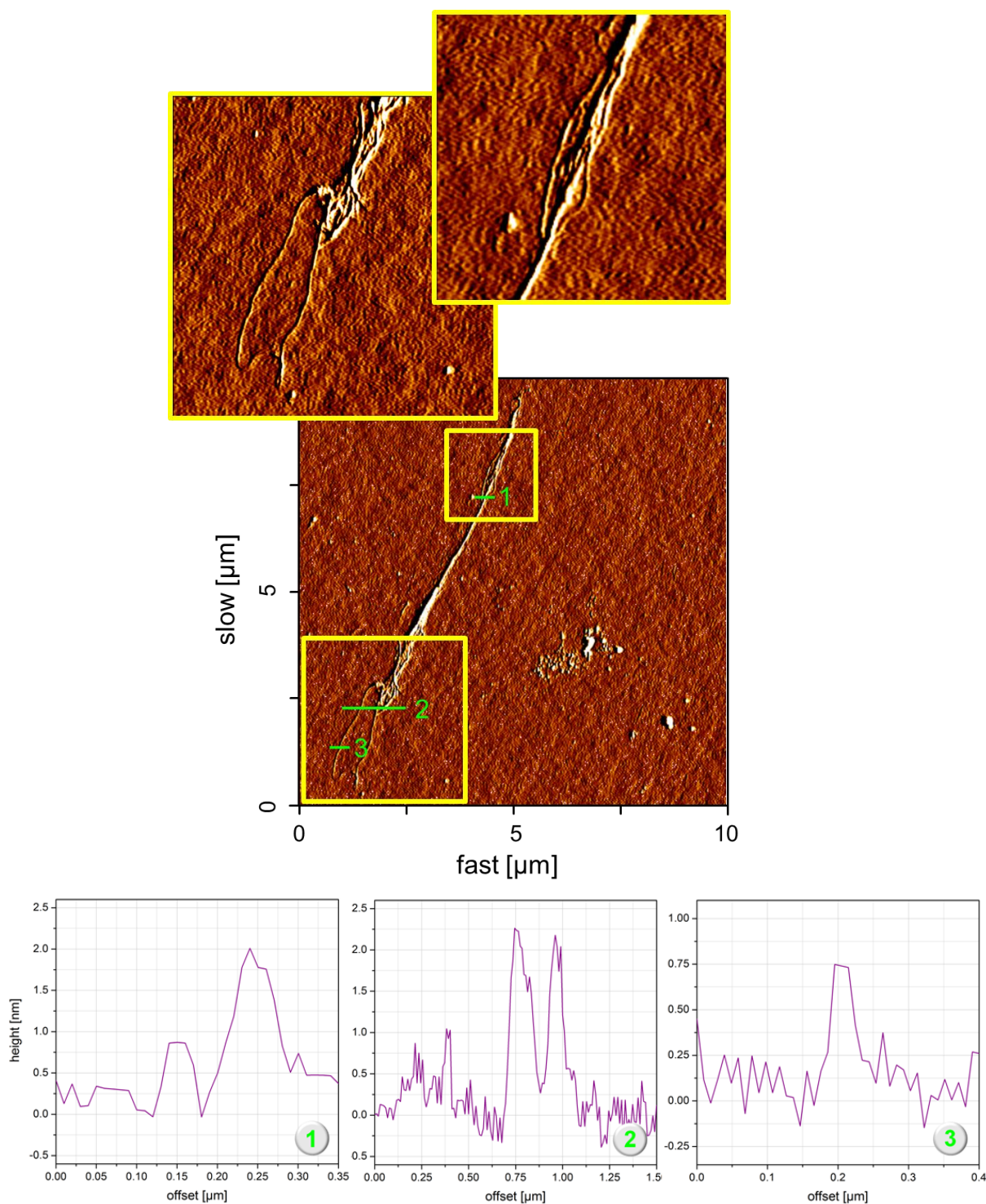


Abbildung 74: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium einschließlich Ausschnittsvergrößerungen sowie zugehörigen Höhenprofilen in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

In der obigen Abbildung gibt es neben Arealen, in denen die einzelnen Alginatketten deutlich nebeneinander erkennbar sind (siehe Ausschnittsvergrößerungen) auch solche Bilddomänen, in denen eine einheitliche Überstruktur vorliegt, welche (absehend von den Dimensionen) nicht von einem Einzelstrang unterschieden werden kann. Insbesondere der letztgenannte Gesichtspunkt steht im Einklang mit dem sich in Symmetrie äußernden egg-box-Modell zur Komplexierung bivalenter Kationen durch das algale Polyanion.

Eine solche Überstruktur ist auch in Abbildung 75 veranschaulicht. Hier lassen lediglich die Abmessungen, welche auf eine durchschnittliche Höhe von 8 nm schließen lassen, Rückschlüsse über das vorliegende Gefüge zu.

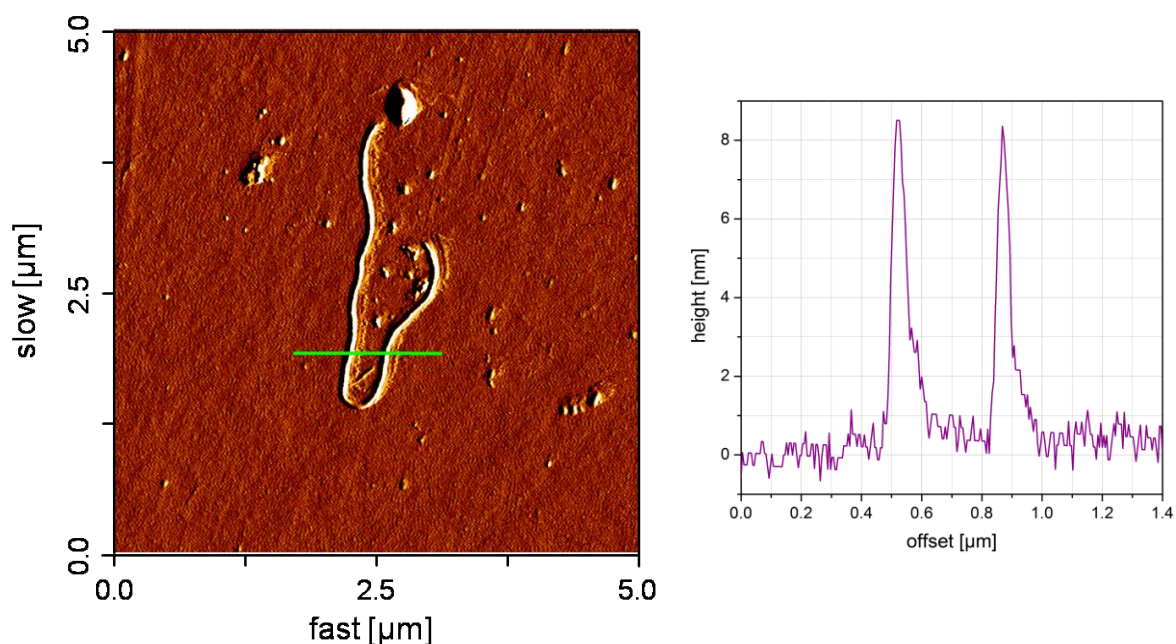


Abbildung 75: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

Die genannten strukturverändernden Aspekte, welche mit der Kationanbindung durch die negativ geladenen Polyelektrolyte Hyaluronat und Alginat einhergehen, haben nicht zuletzt Einfluss auf das Verhalten der Polysaccharide im solvatisierten Zustand bzw. auf die Charakteristika der zugehörigen Lösungen. Betrachtet man diese Änderungen im Hinblick auf den Einsatz dieser Biopolymere bei der Wasseraufbereitung zwecks Bindung toxischer Kationen, so könnten sich diese Effekte beispielsweise auf die Entfernbarekeit der resultierenden Komplexe auswirken. Zu berücksichtigen sind in diesem Zusammenhang nicht zuletzt die Stabilität der sich bildenden Aggregate (in Abhängigkeit vom jeweiligen Gegenion), das zugehörige Diffusionsverhalten oder auch die Lösungsviskosität. Aus diesem Grund wurden unter anderem konduktometrische, rheometrische sowie kernresonanzspektroskopische Analysen durchgeführt, auf welche im Folgenden genauer eingegangen werden soll.

5.2 Ergebnisse der konduktometrischen Titrationsen (CT)

5.2.1 Konduktometrische Titrationsen an Alginat

In Anlehnung an vorhergehende Arbeiten (welche sich bereits mit entsprechenden Untersuchungen an Hyaluronat und Dextran auseinandersetzen) wurden Leitfähigkeitstitrationsen an Algenalginat-Lösungen vorgenommen.^[12, 13] Tabelle 11 gibt eine Übersicht der durchgeführten konduktometrischen Messreihen einschließlich der verwendeten Salz- und Polysaccharidkonzentrationen sowie Zugabevolumina.

Tabelle 11: Übersicht der Parameter der konduktometrischen Titrationsen.

| Kation | Konzentration der Salzlösung [mol/L] | Alginat-Ausgangskonzentration [mg/mL] (Zugabevolumen [μ L]) | | | | |
|------------------|--------------------------------------|---|--------------|--------------|---------------|--------------|
| Mg ²⁺ | 0.05 | 0.5 (100) | 1.0 (100) | 1.5 (100) | 2.0 (100) | 3.0 (100) |
| Ni ²⁺ | 0.05 | 0.5 (100) | 1.0 (100) | 1.5 (100) | 2.0 (100) | 3.0 (100) |
| Zn ²⁺ | 0.05 | 0.25 (50) | 0.50 (50) | 1.0 (50) | 1.5 (100) | 2.0 (100) |
| Cd ²⁺ | 0.05 | 0.125 (25) | 0.25 (50) | 0.50 (50) | 0.75 (50) | 1.0 (50) |
| Ca ²⁺ | 0.045 | 0.125 (25) | 0.25 (25) | 0.50 (50) | 0.75 (50) | 1.0 (50) |
| Pb ²⁺ | 0.025 | 0.125 (50) | 0.25 (50) | 0.50 (50) | 0.75 (50) | 1.0 (100) |
| Ba ²⁺ | 0.025 | 0.125 (50) | 0.25 (50) | 0.50 (50) | 0.75 (100) | 1.0 (100) |
| Cr ³⁺ | 0.0125 | 0.125 (25) | 0.25 (25) | 0.50 (50) | 0.75 (100) | 1.0 (100) |

Die Auswertung der konduktometrischen Titrationsdaten erfolgt in Form einer Auftragung der Lösungsleitfähigkeit κ gegen die jeweilige Salzkonzentration.

Wird eine solche Titrationsreihe auf der Basis eines entsprechenden Volumens deionisierten Wassers durchgeführt, erhält man Datenreihen, deren charakteristische Merkmale der exemplarischen Messung in Abbildung 76 entnommen werden können. Diese beinhaltet die Leitfähigkeitswerte unterschiedlich konzentrierter, wässriger Zinkacetat-Lösungen.

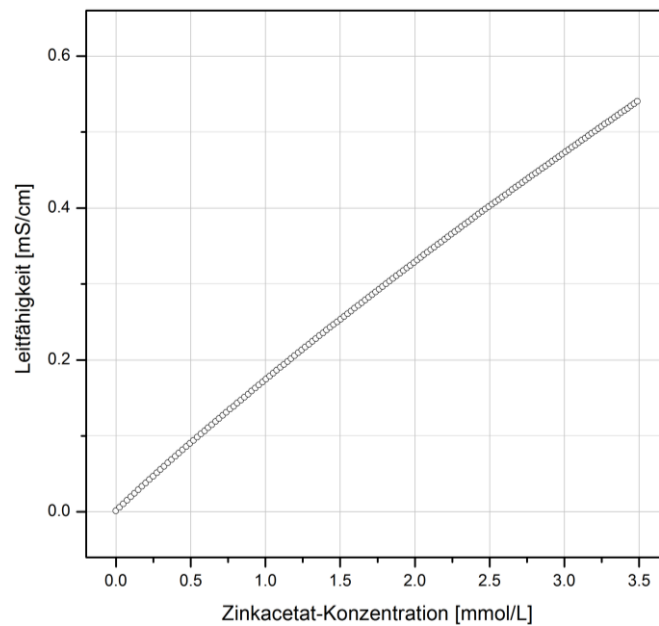


Abbildung 76: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu Wasser in Form einer Auftragung der Leitfähigkeit gegen die Salzkonzentration.

Der resultierende Kurvenverlauf kann mit Hilfe des Quadratwurzelgesetzes nach Kohlrausch (Gl. 6, Abschnitt 3.2) beschrieben werden. Die zugehörige Auftragung der Leitfähigkeitsänderung, sprich des Differenzwertes zwischen zwei aufeinanderfolgenden Leitfähigkeitsdaten, gegen die Zinkacetat-Konzentration ist in Abb. 77 wiedergegeben.

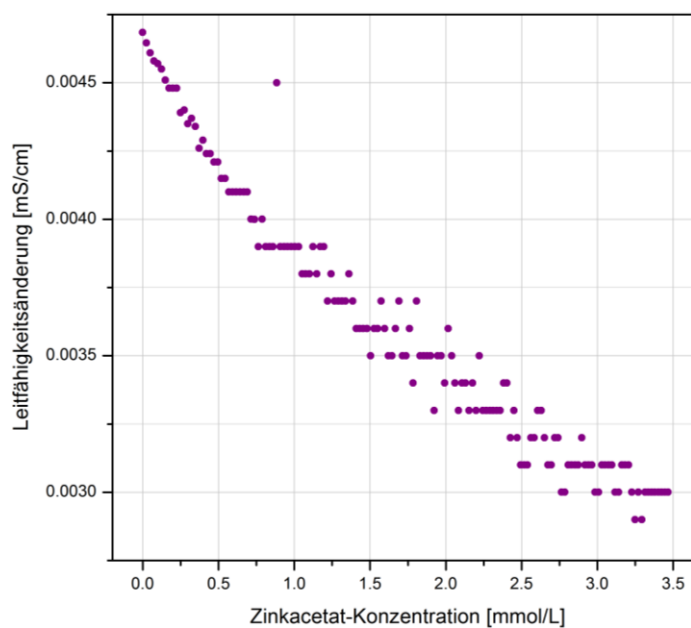


Abbildung 77: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu Wasser in Form einer Auftragung der Leitfähigkeitsänderung gegen die Salzkonzentration.

Die größeren Werteschwankungen ab einer Zinkacetat-Konzentration von ca. 0.5 mmol/L lässt sich dadurch erklären, dass die zugehörigen Leitfähigkeitswerte ab hier einen Wert von 0.1 mS/cm übersteigen und die Anzeige des Konduktometers auf eine Stellenanzahl von vier begrenzt ist.

Ein von den obigen Graphen abweichendes Bild ergibt sich bei Erhöhung der Salzkonzentration in Anwesenheit anionischer Alginatmoleküle. Abbildung 78 zeigt dies auf Grundlage einer zur obigen Titration analogen Leitfähigkeitsmessreihe an Hand einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung (100 mL) unter Zugabe einer 0.05 molaren Zinkacetat-Lösung in 50 μ L-Schritten.

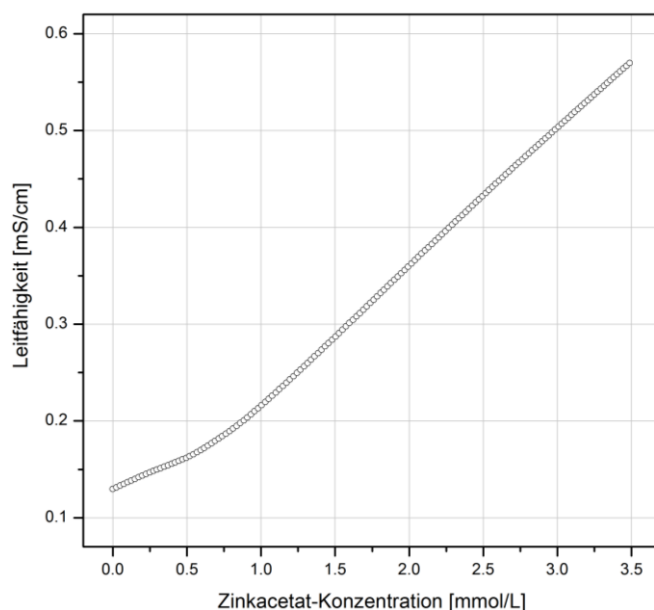


Abbildung 78: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung in Form einer Auftragung der Leitfähigkeit gegen die Salzkonzentration.

In dieser Auftragung spiegelt sich die Anbindung der mehrwertigen Kationen und ihre damit einhergehende Immobilisierung in Gegenwart des geladenen, algalen Polysaccharids in einer Verringerung der Leitfähigkeit wider. Diese Leitfähigkeitsverminderung äußert sich in einem durch eine abweichende Steigung gekennzeichneten Anfangskurvenbereich. Diese, sich in ihrer Steigung unterscheidenden Kurvenabschnitte ermöglichen eine graphische Bestimmung des Äquivalenzpunktes (Abb. 79), sprich jenem Punkt, an welchem alle zur Kationkomplexierung befähigten Bindungsstellen des Algenalginats (im Bezug zur zugehörigen Polymerkonzentration) abgesättigt sind.

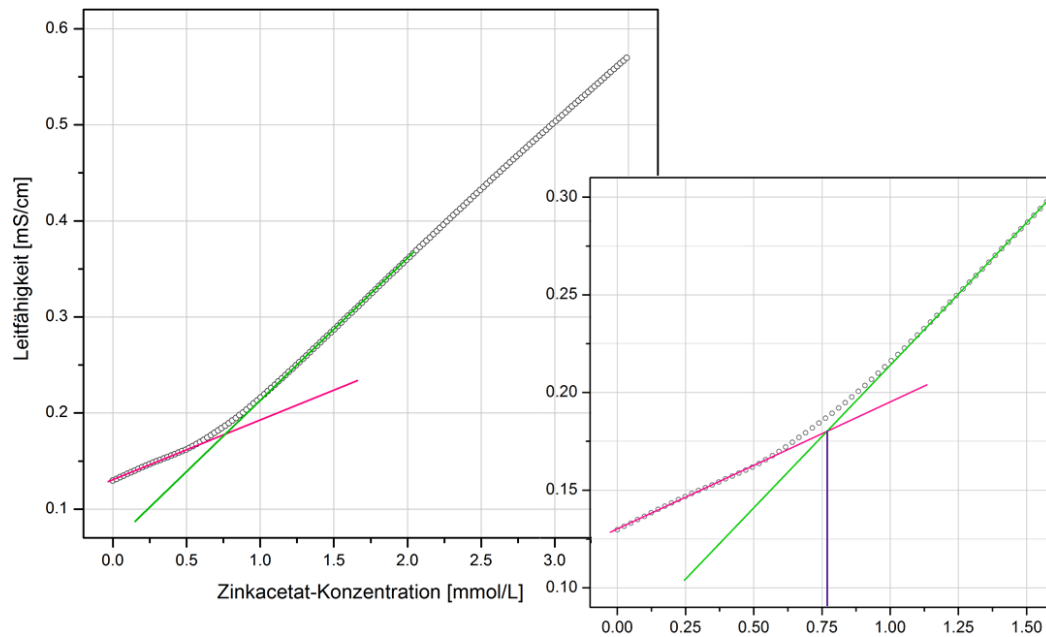


Abbildung 79: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung in Form einer Auftragung der Leitfähigkeit gegen die Salzkonzentration zur graphischen Bestimmung der Äquivalenzkonzentration, einschließlich Ausschnittsvergrößerung.

Entsprechendes gilt für die Auftragung der Änderung der Leitfähigkeit gegen die jeweilige Salzkonzentration, wie in Abbildung 80 dargestellt. Dieser Graph zeigt deutlich die Bereiche unterschiedlicher Steigung.

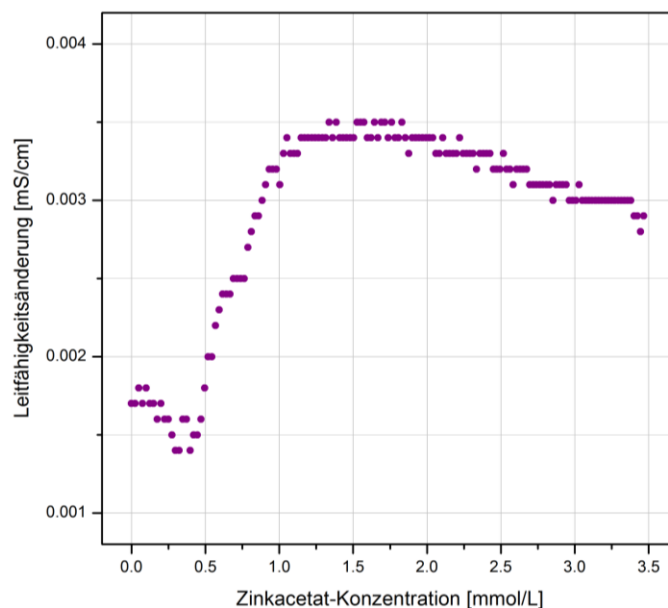


Abbildung 80: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu 0.5 mg/mL Alginat-Lösung in Form einer Auftragung der Leitfähigkeitsänderung gegen die Salzkonzentration.

Überträgt man die Kurvenverläufe aus Abbildung 76 und 78 in ein gemeinsames Diagramm so zeigt sich nach einem anfänglichen Auseinanderlaufen der Leitfähigkeitswerte ein Bereich nahezu paralleler Kurvenentwicklung (Abb. 81). Der Beginn dieses Bereich korrespondiert mit der Sättigung der Alginatmoleküle und ihrem Unvermögen weitere mehrwertige Kationen zu binden.

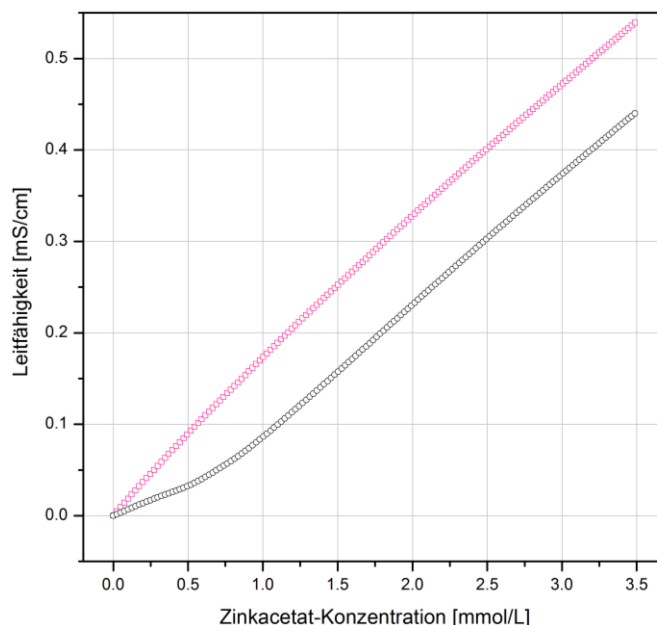


Abbildung 81: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu Wasser (pink) bzw. einer 0.5 mg/mL Natriumalginat-Lösung (schwarz) in Form einer Auftragung der Leitfähigkeit gegen die Salzkonzentration.

Auf der Basis dieser Auftragung, sowie des ermittelten Äquivalenzpunktes, kann durch Vergleich der Leitfähigkeitsdaten bei zugehörigem Salzkonzentrationswert die bindungsbedingte Änderung der spezifischen Leitfähigkeit in Form des sog. $\Delta\kappa^*$ -Wertes bestimmt werden (Abb. 82). Hierzu wird der Einfluss der gesteigerten Ausgangsleitfähigkeit durch die Polysaccharidkonzentration herausgerechnet respektive für beide Kurven der anfängliche κ -Wert subtrahiert, so dass sie denselben Ordinatenabschnitt aufweisen. Die so ermittelbaren $\Delta\kappa^*$ -Werte korrelieren direkt mit der Stabilität der gebildeten Komplexe. Für das vorliegende Beispiel der konduktometrischen Titration einer 0.5 mg/mL Algenalginat-Lösung mit Zinkacetat-Lösung ergibt sich ein $\Delta\kappa^*$ -Wert von 0.0767 mS/cm.

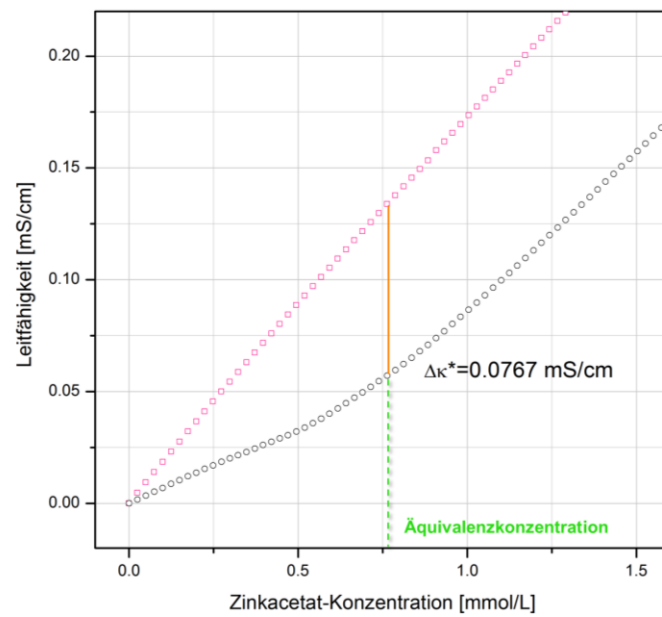


Abbildung 82: Ausschnittsvergrößerung zu Abbildung 81 zur Bestimmung des $\Delta\kappa^*$ -Wertes.

Analoge Darstellungen respektive Analysen der in Tabelle 11 aufgeführten Messreihen sind dem Anhang zu entnehmen (Abb. A-22 bis A-109). Tabelle 12 enthält eine entsprechende Auflistung aller Äquivalenzkonzentrationen sowie die ermittelten $\Delta\kappa^*$ -Werte.

Tabelle 12: Übersicht der Äquivalenzkonzentrationen und $\Delta\kappa^*$ -Werte aller durchgeführten konduktometrischen Titrationsen.

| Alginate-Konz. [mg/mL] | Äquivalenzkonzentration [mmol/L] | | | | | | | |
|---------------------------|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | $\Delta\kappa^*$ -Werte [mS/cm] | | | | | | | |
| | Mg ²⁺ | Ni ²⁺ | Zn ²⁺ | Cd ²⁺ | Ca ²⁺ | Pb ²⁺ | Ba ²⁺ | Cr ³⁺ |
| 0.125 | --- | --- | --- | 0.22 | 0.17 | 0.23 | 0.18 | 0.18 |
| | | | | 0.0229 | 0.0234 | 0.0345 | 0.0257 | 0.0605 |
| 0.25 | --- | --- | 0.40 | 0.45 | 0.35 | 0.45 | 0.48 | 0.34 |
| | | | 0.0423 | 0.0514 | 0.0453 | 0.0605 | 0.0584 | 0.1072 |
| 0.50 | 0.58 | 0.70 | 0.76 | 0.84 | 0.75 | 0.91 | 0.98 | 0.63 |
| | 0.0520 | 0.0504 | 0.0767 | 0.0923 | 0.0901 | 0.1033 | 0.1140 | 0.1834 |
| 0.75 | --- | --- | --- | 1.38 | 0.98 | 1.21 | 1.38 | 0.96 |
| | | | | 0.1130 | 0.1219 | 0.1317 | 0.1698 | 0.2731 |
| 1.0 | 0.92 | 1.27 | 1.31 | 1.67 | 1.34 | 1.59 | 1.79 | 1.17 |
| | 0.0860 | 0.0973 | 0.1287 | 0.1536 | 0.1634 | 0.1650 | 0.2151 | 0.3090 |
| 1.5 | 1.31 | 1.74 | 1.83 | --- | --- | --- | --- | --- |
| | 0.1116 | 0.1413 | 0.1983 | | | | | |
| 2.0 | 1.55 | 1.85 | 2.11 | --- | --- | --- | --- | --- |
| | 0.1392 | 0.1670 | 0.2183 | | | | | |
| 3.0 | 1.75 | 1.98 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| | 0.1777 | 0.2013 | | | | | | |

Eine zusammenfassende Auftragung der in Gegenwart von Mg²⁺-, Ni²⁺-, Zn²⁺-, Cd²⁺-, Ca²⁺-, Pb²⁺-, Ba²⁺- oder Cr³⁺-Ionen bestimmten $\Delta\kappa^*$ -Werte in Abhängigkeit von der Alginate-Konzentration ist in Abbildung 83 illustriert.

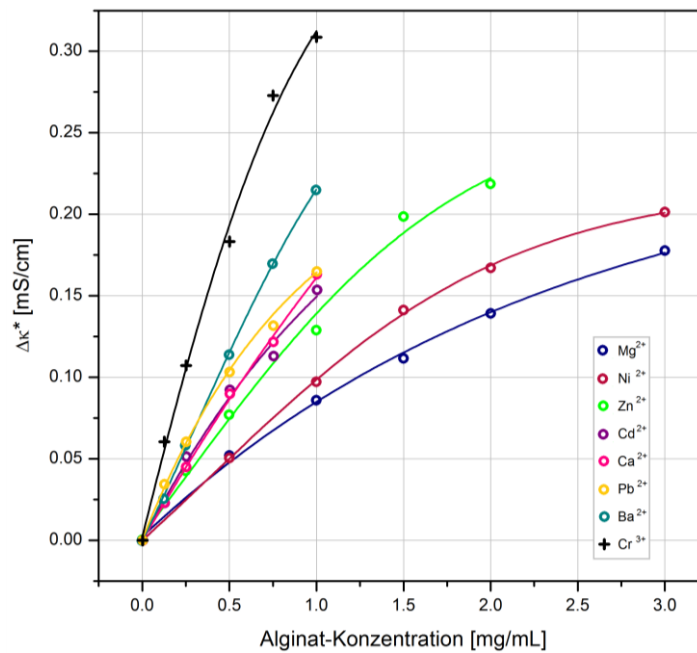


Abbildung 83: Zusammenfassende Auftragung der $\Delta\kappa^*$ -Werte aller durchgeführten Messreihen in Abhängigkeit der Alginat-Konzentration.

Der Abbildung ist zu entnehmen, dass, wie zu erwarten, die Kationenbeweglichkeit mit steigender Alginat-Konzentration in ebenfalls zunehmendem Maße eingeschränkt wird. Des Weiteren ist zu erkennen, dass eine eindeutige Beziehung zwischen der Komplexstabilität und dem Ionenradius (in Falle der zweiwertigen Kationen) bzw. der Teilchenladung (im Vergleich der bivalenten Ionen zum trivalenten Chromion) besteht. Je größer die geladenen Teilchen, welche zur Komplexbildung zur Verfügung stehen, desto ausgeprägter die eintretende Immobilisierung selbiger. Eine Übersicht der Ionenradien ist in Tabelle 13 gegeben.

Tabelle 13: Übersicht über die Kationenradien der verwendeten Salze.^[121]

| Kation | Ionenradius [nm] |
|------------------|------------------|
| Mg ²⁺ | 0.066 |
| Ni ²⁺ | 0.069 |
| Zn ²⁺ | 0.074 |
| Cd ²⁺ | 0.097 |
| Ca ²⁺ | 0.099 |
| Pb ²⁺ | 0.120 |
| Ba ²⁺ | 0.134 |
| Cr ³⁺ | 0.063 |

Die Relation zwischen dem Bindungsgrad bzw. der Komplexstabilität und der Kationenart respektive -größe zeigt sich auch in Abbildung 84, welche die Auftragung der $\Delta\kappa^*$ -Werte der

konduktometrischen Titrations mit bivalenten Ionen gegen deren Ionenradius (bei einer Alginat-Ausgangskonzentration von 1 mg/mL) beinhaltet.

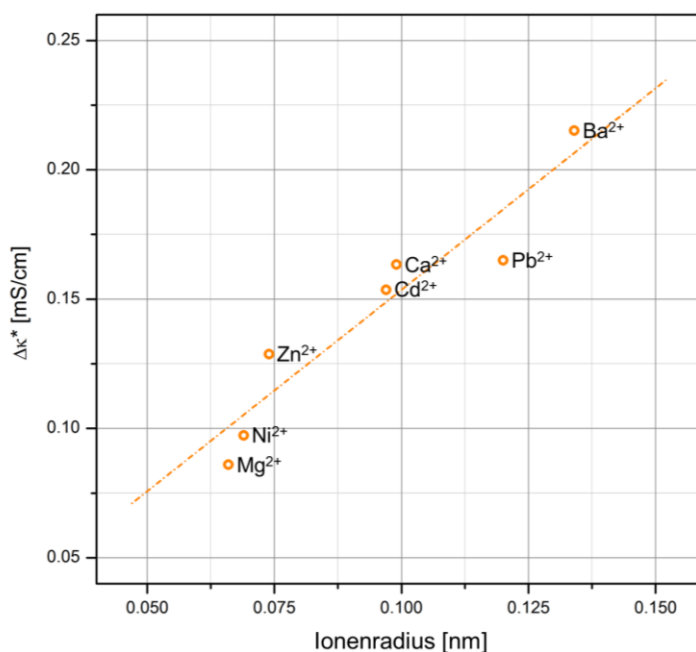


Abbildung 84: Auftragung der $\Delta\kappa^*$ -Werte der unterschiedlichen zweiwertigen Kationen in Abhängigkeit ihres Ionenradius bei einer Alginat-Konzentration von 1.0 mg/mL.

Eine weitere Option, welche sich durch die Bestimmung der Sättigungskonzentration bietet, ist die Berechnung des Kation-Monomer-Verhältnisses. Dieses Verhältnis erwies sich für das Polysaccharid Hyaluronat im Rahmen vorhergehender Arbeiten (in einem ähnlichen PS-Konzentrationsbereich) als nahezu konzentrationsunabhängig und für alle untersuchten Salze annähernd gleich. Eine Verdoppelung der Polymermenge ging hier mit einer Verdoppelung der zur Sättigung benötigten Salzmenge einher.^[12] Im Gegensatz hierzu ist dieser Zusammenhang beim Algenalginat nicht gegeben, wie Tabelle 14 respektive Abbildung 85 veranschaulicht.

Tabelle 14: Übersicht der Kation-Monomer-Verhältnisse aller durchgeführten konduktometrischen Titrations.

| Alginate-Konz. [mg/mL] | Kation-Monomer-Verhältnis | | | | | | | |
|---------------------------|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Mg ²⁺ | Ni ²⁺ | Zn ²⁺ | Cd ²⁺ | Ca ²⁺ | Pb ²⁺ | Ba ²⁺ | Cr ³⁺ |
| 0.125 | --- | --- | --- | 1:2.86 | 1:3.71 | 1:2.74 | 1:3.50 | 1:3.50 |
| 0.25 | --- | --- | 1:3.15 | 1:2.80 | 1:3.60 | 1:2.80 | 1:2.63 | 1:3.71 |
| 0.50 | 1:4.36 | 1:3.61 | 1:3.33 | 1:3.01 | 1:3.37 | 1:2.78 | 1:2.58 | 1:4.02 |
| 0.75 | --- | --- | --- | 1:2.75 | 1:3.87 | 1:3.13 | 1:2.75 | 1:3.94 |
| 1.0 | 1:5.49 | 1:3.98 | 1:3.85 | 1:3.02 | 1:3.76 | 1:3.18 | 1:2.82 | 1:4.32 |
| 1.5 | 1:5.79 | 1:4.36 | 1:4.14 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 2.0 | 1:6.52 | 1:5.46 | 1:4.79 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 3.0 | 1:8.66 | 1:7.65 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |

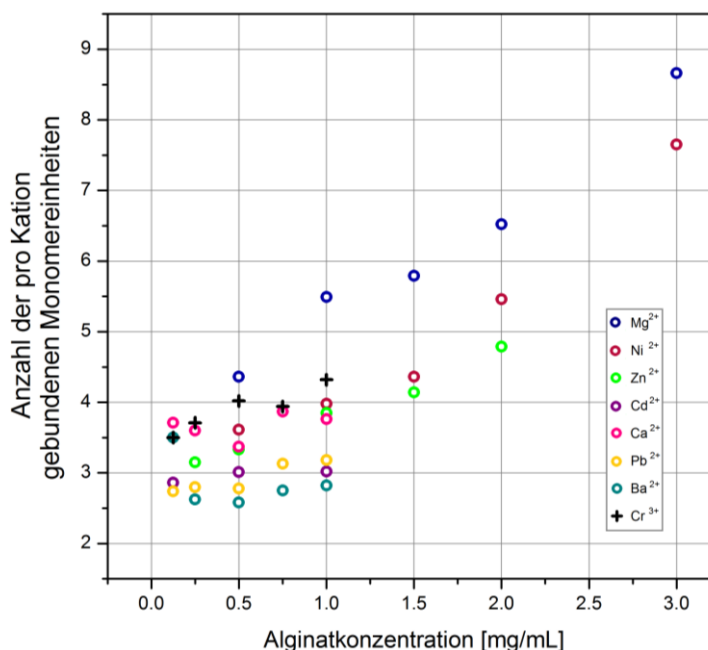


Abbildung 85: Auftragung der auf Basis konduktometrischen Titrations bestimmten Anzahl der pro Kation gebundenen Monomereinheiten gegen die Alginate-Konzentration.

Der Grund hierfür liegt darin, dass für das algale Polysaccharid bereits in einem Konzentrationsbereich unterhalb von 3 mg/mL die Polymerkonzentration ausreichend hoch ist, um in Anwesenheit mehrwertiger Kationen dem egg-box-Modell entsprechende, über eine Dimerbildung hinausreichende Aggregate auszubilden (vgl. Abb. 17, Abschnitt 2.2.3). Mit zunehmender Zuckerkonzentration erhöht sich die Wahrscheinlichkeit der Ausbildung größerer, intermolekularer Überstrukturen, so dass insgesamt weniger Gegenionen zur Sättigung der anionischen Ketten nötig sind. Geringere Alginate-Konzentrationen hingegen führen zur Di-

mer- respektive „half-egg-box“-Bildung, welche die Notwendigkeit einer größeren Kationenanzahl bedingt.

Abbildung 85 ist des Weiteren zu entnehmen, dass das Kation-Monomer-Verhältnis zudem eine Abhängigkeit vom Ionenradius aufweist. Im Hinblick auf die verwendeten zweiwertigen Kationen ist zu erkennen, dass bei gleicher Alginat-Konzentration mit zunehmendem Ionenradius weniger Monomereinheiten gebunden werden. Dies wiederum geht mit einer geringeren sterischen Beeinflussung der anionischen Polymerketten untereinander einher, ein Aspekt, welcher die gefundene Erhöhung der Komplexstabilität mit zunehmendem Ionenradius untermauert.

Der Vergleich der Daten der bivalenten Kationen speziell mit denen des trivalenten Chromions zeigt, dass das letztere, trotz seiner höheren Ladung, scheinbar generell nicht befähigt ist eine höhere Anzahl an Monomereinheiten zu binden. Im Vergleich zum minimal größeren Magnesiumion zeigt es sogar ein etwas geringeres Bindungsvermögen. Eine mögliche Erklärung hierfür mag darin liegen, dass das Chromion eventuell schon zu klein ist, um von den geladenen Kettensegmenten des Alginats effektiv komplexiert zu werden; eine intramolekulare Komplexierung, sprich eine Anbindung mehrerer benachbarter Monomereinheiten eines Alginatmoleküls könnte hier bereits eine vom natürlichen Bindungswinkel abweichende Krümmung der Polymerkette erfordern. Auch die Anbindung der Cr^{3+} -Ionen in einer wahrscheinlich vom egg-box-Modell abweichenden, weniger geordneten Struktur spricht für diesen Aspekt.

Nichtsdestotrotz zeichnen sich die in Gegenwart dreiwertiger Chromionen ausbildenden (möglicherweise überwiegend intermolekularen) Komplexe, wie bereits erwähnt, durch eine gesteigerte Stabilität aus. Dieser Aspekt kann auf die vergleichsweise hohe Ladungsdichte des Cr^{3+} -Ions zurückgeführt werden.

5.3 Ergebnisse der gelpermeationschromatographischen Analysen (GPC)

Auf Grund in Abschnitt 3.3 genannter Aspekte ist es im Rahmen dieser Arbeit schwierig absolute M_w -Werte zu bestimmen. Zu diesen Aspekten zählt die Verwendung von Kalibrationsstandards, die in der Molekülstruktur von den Probenpolysacchariden abweichen. Des Weiteren konnte zur Berechnung der mittleren Molmassen von Dextran, Hyaluronat sowie Alginat kein exaktes Brechungsindexinkrement angegeben werden. Auch die Bestimmung von

$(\delta n/\delta c)_\lambda$ war in Ermangelung der Möglichkeit zur genauen Angabe der Probenkonzentration (infolge von Wägeungenauigkeiten oder eventueller Polymerzurückhaltung durch systeminterne Filter etc.) nicht möglich. Nichtsdestotrotz bieten die gelpermeationschromatographischen Messungen eine Option zur Untersuchung des Abbauverhaltens der verwendeten Polysaccharide infolge der Ultraschallbehandlung und zur Analyse der Verhältnisse der resultierenden Molmassen bzw. Kettenlängen zueinander. Auch im Hinblick auf andere Analysemethoden, wie beispielsweise den PFG-NMR-Messungen zur Untersuchung des Diffusionsverhaltens oder den rotationsviskosimetrischen Titrationen, ist ein Überblick über die relativen Molmassen von Nutzen. Selbiges gilt für die Kationenanbindung sowie Gelbildung der Polyosen und eventuelle Abhängigkeiten dieser von der Kettenlänge.

5.3.1 Gelpermeationschromatographische Analysen an Dextran

Die größenausschlusschromatographischen Analysen erfolgten im Falle des ungeladenen, linearen Polysaccharids Dextran in auf bidestilliertem Wasser basierenden Lösungen mit pH-Werten im Bereich von 6.3 bis 6.5. Eine vorherige Filtration der Probenlösungen oder die Verwendung eines Puffers als mobile Phase war hier auf Grund der Lösungscharakteristika (gute Löslichkeit, keine Schwebstoffe, hohe Messreproduzierbarkeit) nicht notwendig. Eine Übersicht der Messergebnisse ist in Tabelle 15 gegeben und in Abb. 86 graphisch, in Form einer Auftragung der mittleren Molmasse gegen die Degradationszeit, zusammengefasst.

Tabelle 15: Ergebnisübersicht der GPC-Analysen an Dextran-Abbauprodukten

| Abbauzeit [h] | Mittlere Molmasse M_w [g/mol] | | | |
|----------------------|---|------------------|------------------|--------------------------|
| | Messung 1 | Messung 2 | Messung 3 | Durchschnittswert |
| 0 | 201300 | 201700 | 201600 | 201500 |
| 1 | 154200 | 157600 | 155700 | 155800 |
| 2 | 138100 | 137300 | 138900 | 138100 |
| 4 | 104300 | 104700 | 104500 | 104500 |
| 8 | 64700 | 64500 | 64000 | 64400 |
| 16 | 15000 | 15000 | 18900 | 16300 |
| 32 | 4600 | 4000 | 6600 | 5100 |

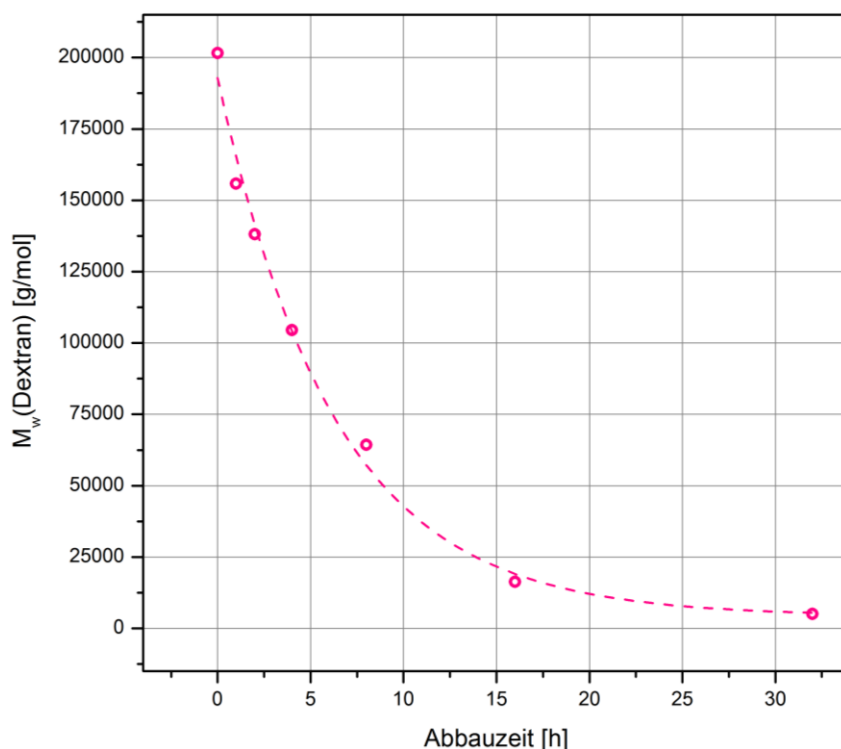


Abbildung 86: Auftragung der gelpermeationschromatographisch bestimmten mittleren Molmassen unterschiedlich lang beschallter Dextran-Proben gegen die jeweilige Degradationszeit.

Die Darstellung offenbart eine zunächst starke Abnahme des Gewichtsmittels der Dextran-Molmasse mit der Abbauzeit, gefolgt von einem eher flachen, leicht abfallenden Kurvenabschnitt. Die Kurvenanpassung, in obiger Abbildung durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet, erfolgte hier mit Hilfe einer monoexponentiellen Zerfallsfunktion, welche als Hinweis auf eine Kinetik erster Ordnung gewertet werden kann.

5.3.2 Gelpermeationschromatographische Analysen an Hyaluronat

Die GPC-Untersuchungen an unterschiedlich lang beschallten Natriumhyaluronat-Proben erfolgten in Analogie zu Dextran an Hand entsprechend konzentrierter Lösungen des Polysaccharids in bidestilliertem Wasser mit einem ungefähren Lösungs-pH-Wert von ca. 6.4. Die resultierenden Messergebnisse sind in Tabelle 16 zusammengefasst. Abbildung 87 beinhaltet die zugehörige Auftragung der mittleren Molmasse gegen die Abbauzeitzeit.

Tabelle 16: Ergebnisübersicht der GPC-Analysen an Hyaluronat-Abbauprodukten

| Abbauzeit [h] | Mittlere Molmasse M_w [g/mol] | | | |
|---------------|---------------------------------|-----------|-----------|-------------------|
| | Messung 1 | Messung 2 | Messung 3 | Durchschnittswert |
| 0 | 1609000 | 1633000 | 1648000 | 1630000 |
| 1 | 1163000 | 1180000 | 1166000 | 1170000 |
| 2 | 735500 | 732700 | 734000 | 734100 |
| 4 | 412500 | 413100 | 410800 | 412100 |
| 8 | 219900 | 228200 | 231400 | 226500 |
| 16 | 101700 | 103900 | 102600 | 102700 |
| 32 | 24800 | 27500 | 25400 | 25900 |

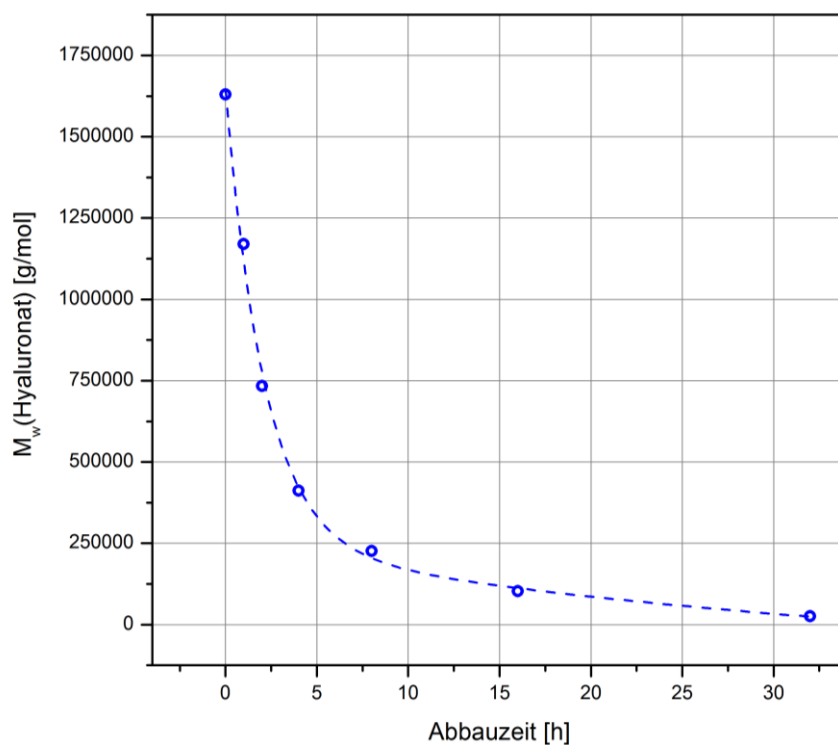


Abbildung 87: Auftragung der gelpermeationschromatographisch bestimmten mittleren Molmassen unterschiedlich lang beschallter Hyaluronat-Proben gegen die jeweilige Degradationszeit.

Auch im Falle des linearen, anionischen Polysaccharids Hyaluronat ergibt sich ein der Dextran-Untersuchung ähnelndes Bild. Einem anfänglich steil abfallenden Kurvenbereich schließt sich ein deutlich flacherer Abschnitt des Graphen an, ein Gesamtkurvenverlauf, welcher (wie auch im Falle des Dextrans) durch Annäherung einer monoexponentiellen Zerfallsfunktion wiedergegeben werden kann.

5.3.3 Gelpermeationschromatographische Analysen an Alginat

Die Durchführung der größenausschlusschromatographischen Betrachtungen des aufgereinigten Natriumalginate sowie seiner Abbaustufen erfolgte auf Grundlage von geeignet konzentrierter Lösungen des Biopolymers in einem zuvor angesetzten Phosphatpuffer. Die Wahl des Solvens lässt sich durch die äußere Erscheinungsform der linearen, anionischen Polymerketten in wässriger Lösung und der damit auftretenden Problematik im Bezug zum Messsystem begründen. So liegen die algalen Polysaccharidmoleküle in bidestilliertem Wasser in nahezu gestreckter Form vor, ein Erscheinungsbild, welches u. U. dazu beiträgt, dass die größten Probenteilchen das System nicht passieren können, sondern im Filtersystem zurückgehalten werden oder das Säulenfüllmaterial nicht wieder verlassen. Da dies zu einer unvollständigen Probenanalyse und verfälschten Ergebnissen führen würde, wurde ein Puffersystem als Elutionsmittel gewählt, um ein Verknäueln der Polymerketten hervorzurufen und selbige Problematik zu beseitigen. Dementsprechend wurde auch das Ansetzen der Kalibrationslösungen und das Vermessen selbiger auf Pufferbasis durchgeführt. Der in diesem Zusammenhang bestimmte Lösungs-pH-Wert lag bei etwa 6.8.

Eine Übersicht der Messergebnisse ist in Tabelle 17 dargestellt und in Abb. 88 graphisch, analog zu den vorherigen Messreihen, zusammengefasst.

Tabelle 17: Ergebnisübersicht der GPC-Analysen an Alginat-Abbauprodukten

| Abbauzeit [h] | Mittlere Molmasse M_w [g/mol] | | | |
|---------------|---------------------------------|-----------|-----------|-------------------|
| | Messung 1 | Messung 2 | Messung 3 | Durchschnittswert |
| 0 | 168500 | 163000 | 166000 | 165800 |
| 1 | 149000 | 147800 | 148000 | 148300 |
| 2 | 144100 | 143800 | 135100 | 141000 |
| 4 | 132300 | 118900 | 127400 | 126200 |
| 8 | 112300 | 110700 | 111600 | 111500 |
| 16 | 66200 | 66400 | 71300 | 68000 |
| 32 | 28000 | 29600 | 29500 | 29000 |

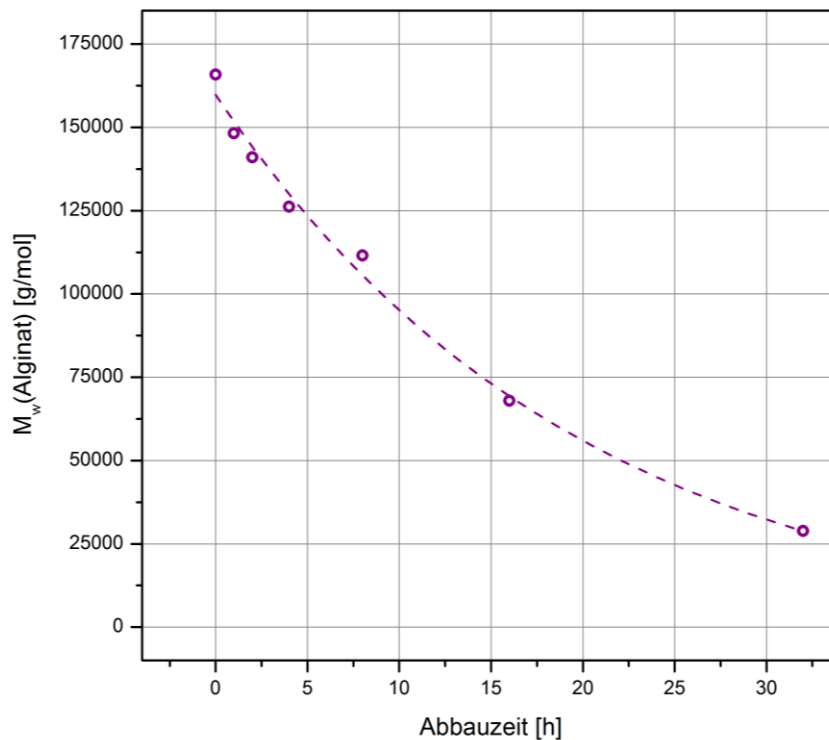


Abbildung 88: Auftragung der gelpermeationschromatographisch bestimmten mittleren Molmassen unterschiedlich lang beschallter Alginat-Proben gegen die jeweilige Degradationszeit.

Ebenso wie im Falle des bereits erläuterten Abbauverhaltens der Polysaccharide Hyaluronat und Dextran lassen sich auch die für Alginat erhaltenen M_w -Werte in Abhängigkeit von der Beschallungszeit mittels einer monoexponentiellen Zerfallsfunktion beschreiben. Der in Abb. 88 dargestellte Verlauf zeichnet sich allerdings durch einen vergleichsweise schwachen Abfall der mittleren Molmasse aus. Neben möglichen, dem Biopolymer und seiner Struktur innewohnenden Gründen kann zudem ein abgeschwächter Abbau aufgrund eines bereits abgenutzten/porösen Ultraschallfingers und einer damit verbundenen, geringeren Beschallungsleistung als potentielle Ursache angeführt werden.

Zusammenfassend kann auf Basis der durchgeführten Abbaureihen der gewählten Polyosen Dextran, Hyaluronat sowie Alginat und der zugehörigen gelpermeationschromatographischen Ergebnisse die Vermutung angestellt werden, dass ein genereller, exponentieller Zusammenhang für die Degradation langkettiger Polysaccharide mittels Ultraschall existiert.

5.4 Ergebnisse der kernresonanzspektroskopischen Analysen (NMR/PFG-NMR)

Die Auswertung der PFG-NMR-Diffusionsmessungen erfolgt gemäß des in Kapitel 4.7.4 erläuterten Vorgehens; die aus den Messungen resultierenden Echozerfallskurven werden zwecks Übersichtlichkeit und Vergleichsmöglichkeit, beispielsweise im Hinblick auf die Effekte der Salzkonzentration oder des Kationenradius, entsprechend zusammengefasst dargestellt.

5.4.1 Kernresonanzspektroskopische Analysen an Dextran

Um eine geeignete Degradationsstufe des Dextrans hinsichtlich der durchzuführenden NMR-Untersuchungen dieser Arbeit zu definieren, wurden die gelpermeationschromatographisch analysierten Abbauprodukte ebenfalls kernresonanzspektroskopisch in Bezug auf die resultierenden Linienbreiten und die mit der Kettenspaltung einhergehende gesteigerte Diffusion hin betrachtet. Abbildung 89 zeigt die zugehörigen Echozerfallskurven der jeweiligen Proben. Generell findet man hier für alle Graphen einen geringfügig vom Linearen abweichenden Verlauf. Es ist auch ersichtlich, dass mit zunehmender Degradationszeitspanne die Abweichung vom linearen Verlauf eine abnehmende Tendenz aufzeigt, was auf der statistischen Spaltung der Ketten und ihrer damit verbundenen Verkürzung gründet. Das exponentielle (im Falle des Hyaluronats und Alginats deutlich ausgeprägtere) Erscheinungsbild der Graphen ist als Hinweis darauf zu interpretieren, dass es sich bei dem untersuchten Mehrfachzucker um ein polydisperses Material handelt, ein Aspekt, welcher mit dem Vorhandensein mehrerer Diffusionskoeffizienten innerhalb einer Probe einhergeht. Aus diesem Grund und angesichts der allgemeinen Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten von der Polymerkonzentration, welche hier willkürlich (lediglich auf Basis der resultierenden NMR-Auflösung) festgelegt wurde, soll im Rahmen dieser Arbeit weitestgehend auf die Angabe der entsprechenden Daten für die einzelnen Lösungen verzichtet werden.

Neben der Viskositätserniedrigung und der erhöhten Diffusionsgeschwindigkeit infolge des Polymerabbaus, findet man des Weiteren eine gesteigerte Peakintensität und eine verringerte Linienbreite in den NMR-Spektren der Degradationsprodukte. Dies ist beispielhaft in Abb. 90 anhand eines Spektrenausschnitts von unabgebautem und 16 h beschalltem Dextran veranschaulicht.

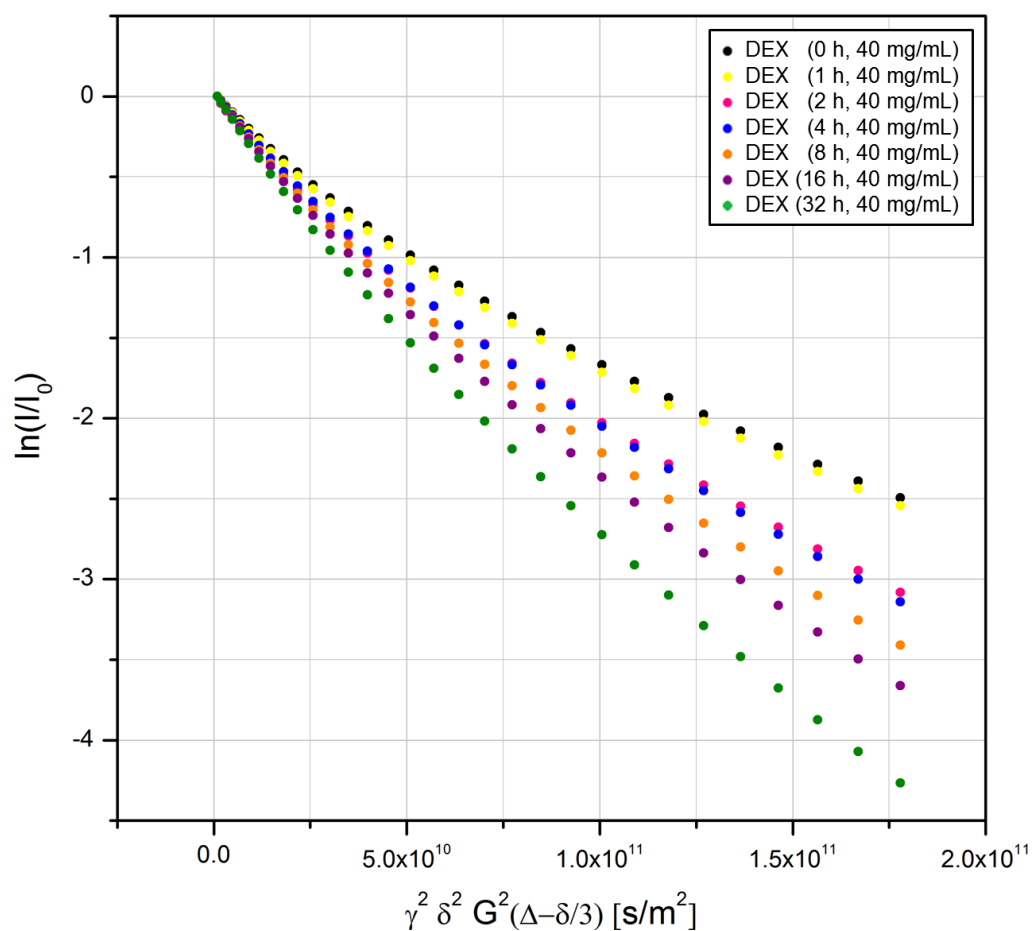


Abbildung 89: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Dextran-Lösungen unterschiedlicher Abbaustufen in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

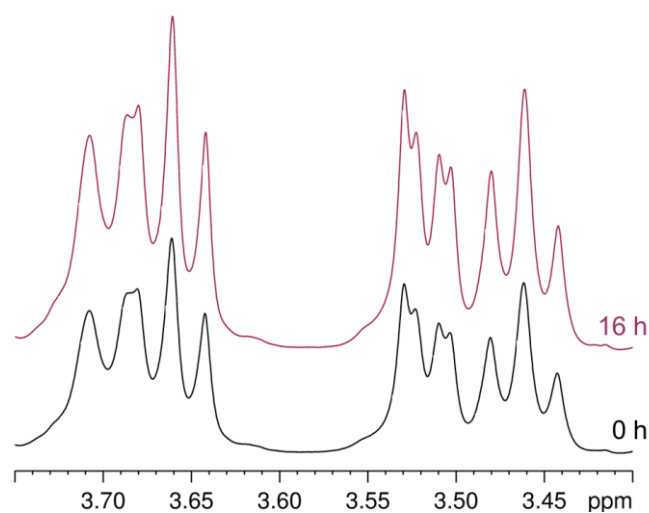


Abbildung 90: Ausschnitt der NMR-Spektren von 0 h und 16 h beschalltem Dextran.

Auf Grund der geringen Lösungsviskosität im Falle unbehandelten Dextrans und der lediglich geringfügig gesteigerten Spektrenauflösung infolge des Abbaus wurden die NMR-Untersuchungen auf Basis gepulster Feldgradienten bei diesem Polysaccharidtyp anhand von unabgebautem bzw. aufgereinigtem Ausgangsmaterial durchgeführt.

Die betrachteten Salzkonzentrationen bzw. Zugabemengen im Falle des neutralen Polysaccharids Dextran wurden denen der PFG-NMR-Hyaluronat-Proben angepasst bzw. entsprechend hoch gewählt und liegen, falls nicht anders angegeben, zwischen 0.32 und 12.8 mmol/L. Im Kontext der kernresonanzspektroskopischen Analysen unter Zusatz von Nickel- bzw. Bleisalzen wurde auf Grund ihres Einflusses auf die Relaxationsvorgänge mit entsprechend verringerten Zugabemengen gearbeitet.

Zur Erklärung der Analyseresultate werden in diesem Kapitel repräsentative Graphen wiedergegeben; die übrigen Kurven und Zusammenfassungen sind dem Anhang zu entnehmen (Abb. A-110 bis A-115).

Abbildung 91 umfasst die Echozerfallskurven einer 40 mg/mL Dextran-Lösung jeweils in Ab- und Anwesenheit unterschiedlicher Mengen Cadmiumacetat. Man kann erkennen, dass, wie erwartet, durch die Zugabe der mehrwertigen Kationen keine Änderung im Diffusionsverhalten der solvatisierten Dextranmoleküle auftritt. Wechselwirkungen zwischen den Polymerketten und den bivalenten Kationen, wie Komplexbildungen oder ähnliche Phänomene, bleiben aus. Leichte Abweichungen der Graphen vom Kurvenverlauf ohne CdAc_2 (hier schwarz dargestellt) sind auf geringfügige Änderungen des Bewegungsverhaltens der Polymerteilchen auf Grund des gelösten Salzes an sich oder auch auf Ungenauigkeiten bei der Probenpräparation zurückzuführen.

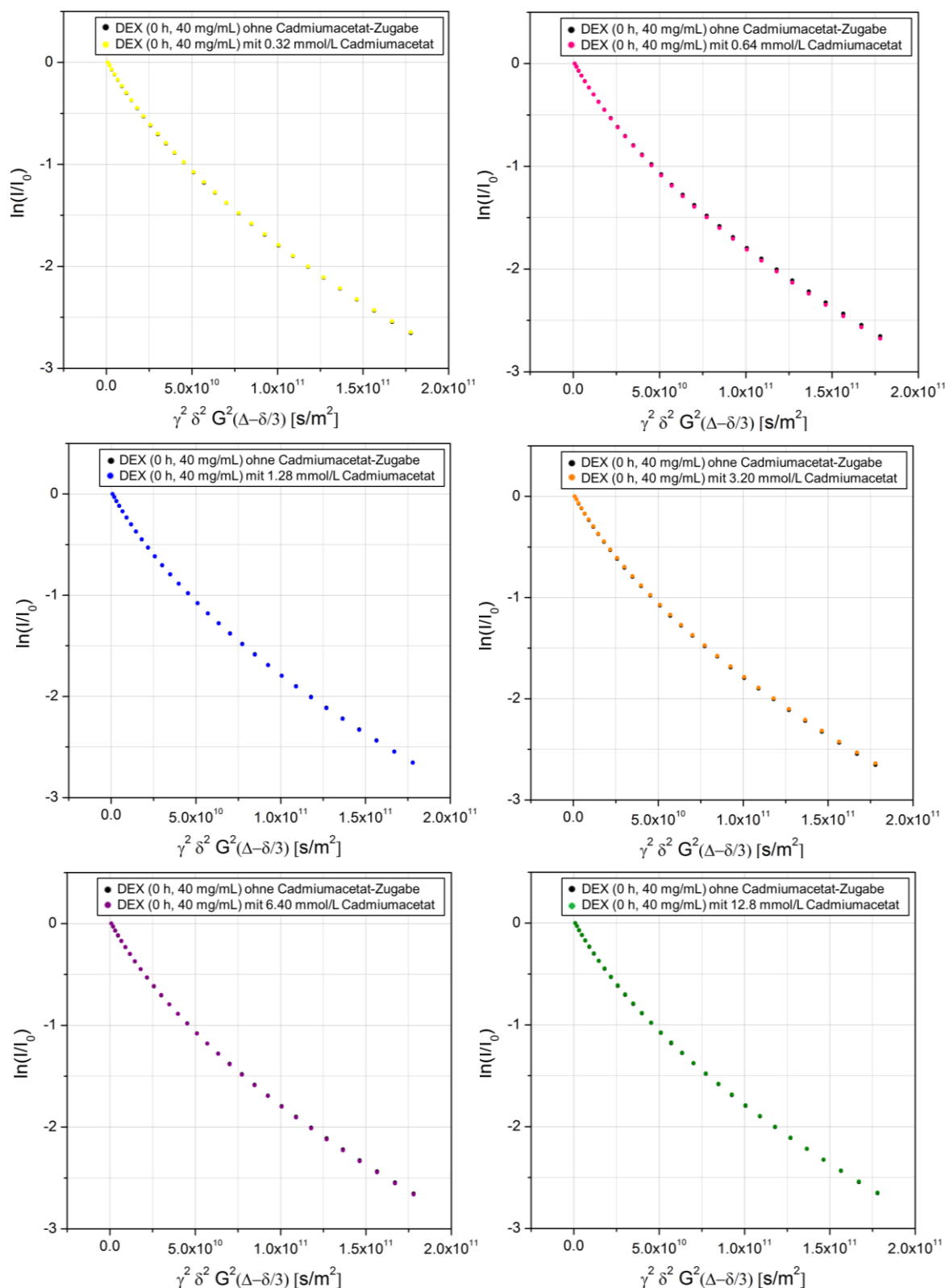


Abbildung 91: Separierte Auftragung der Echozerfallskurven der PFG-NMR-Untersuchungen an Dextran-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CdAc₂ zur Veranschaulichung des Kationeneffekts.

Abbildung 92 beinhaltet eine zusammengefasste Darstellung aller hier gezeigten Kurven und verdeutlicht die Deckungsgleichheit selbiger.

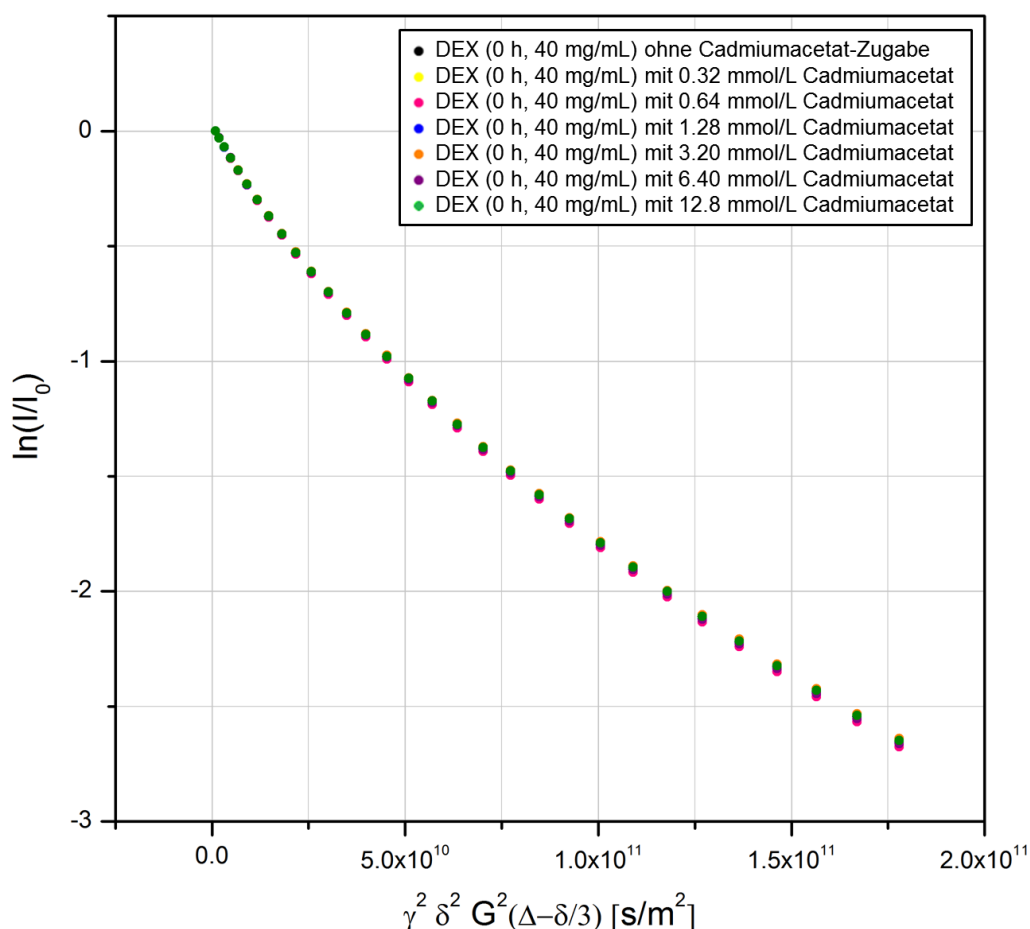


Abbildung 92: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Dextran-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CdAc₂.

Analoge Untersuchungen auf Basis des trivalenten Chrom-Kations führen zu vergleichbaren Ergebnissen, wie Abbildung 93 verdeutlicht. Die Divergenzen zwischen den einzelnen Kurven sind hier etwas ausgeprägter, enthalten allerdings keinen sichtbaren Trend, welcher auf eventuelle Wechselwirkungen schließen lassen würde. So findet man bei der Kurve der Dextran-Probe mit 12.8 mmol/L Chromchlorid das schnellste und bei einer Konzentration von 0.32 mmol/L das zweitschnellste Diffusionsverhalten, die langsamste Diffusion hingegen findet man bei einer Cr³⁺-Konzentration von 1.28 mmol/L.

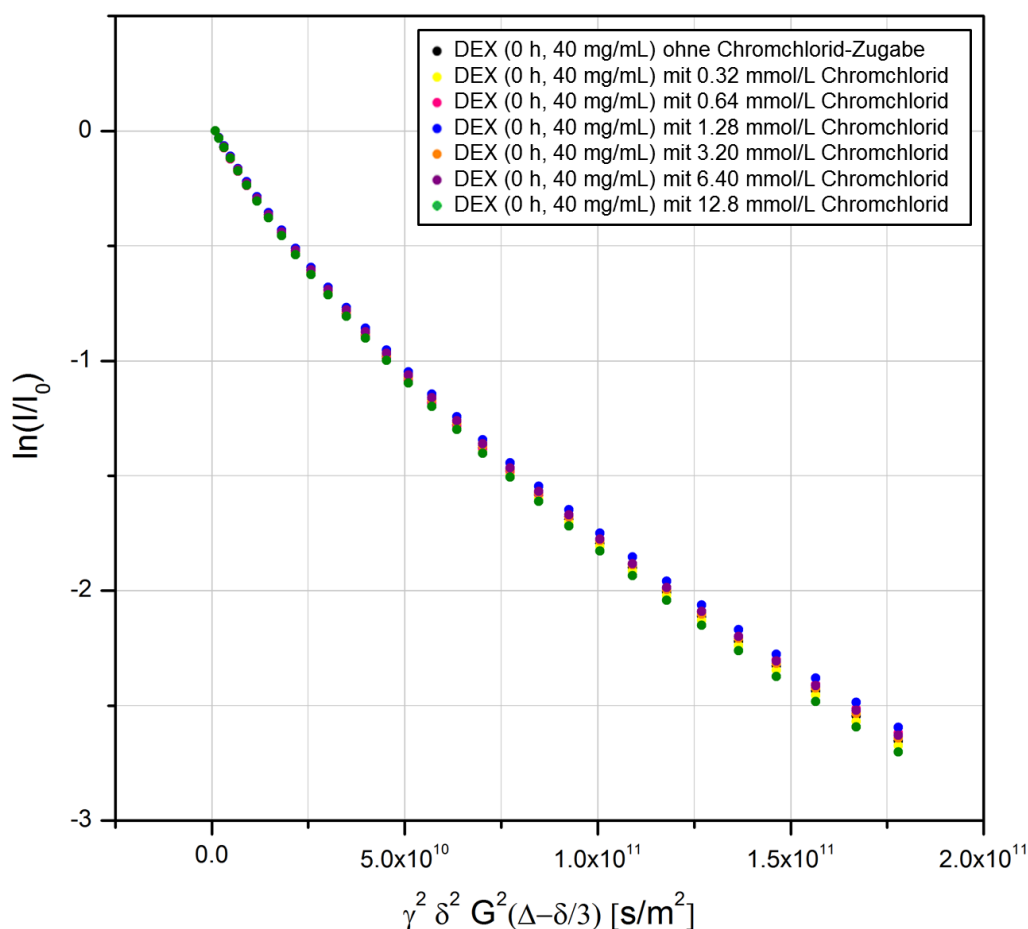


Abbildung 93: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Dextran-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CrCl_3 .

Abbildung 94 beinhaltet eine Gegenüberstellung der Echozerfallskurven einer 40 mg/mL-Lösung unabgebauten Dextrans in deuteriertem Wasser in Anwesenheit repräsentativ gewählter, multivalenter Kationen äquivalenter Konzentration. Hieraus, wie auch anhand der übrigen Messreihen (vgl. Abb. A-110 bis A-115), ist ersichtlich, dass das Ausbleiben von Wechselwirkungen zwischen neutralem Polysaccharid und zwei- bzw. dreiwertigen Kationen unabhängig von Ionenart und -radius ist.

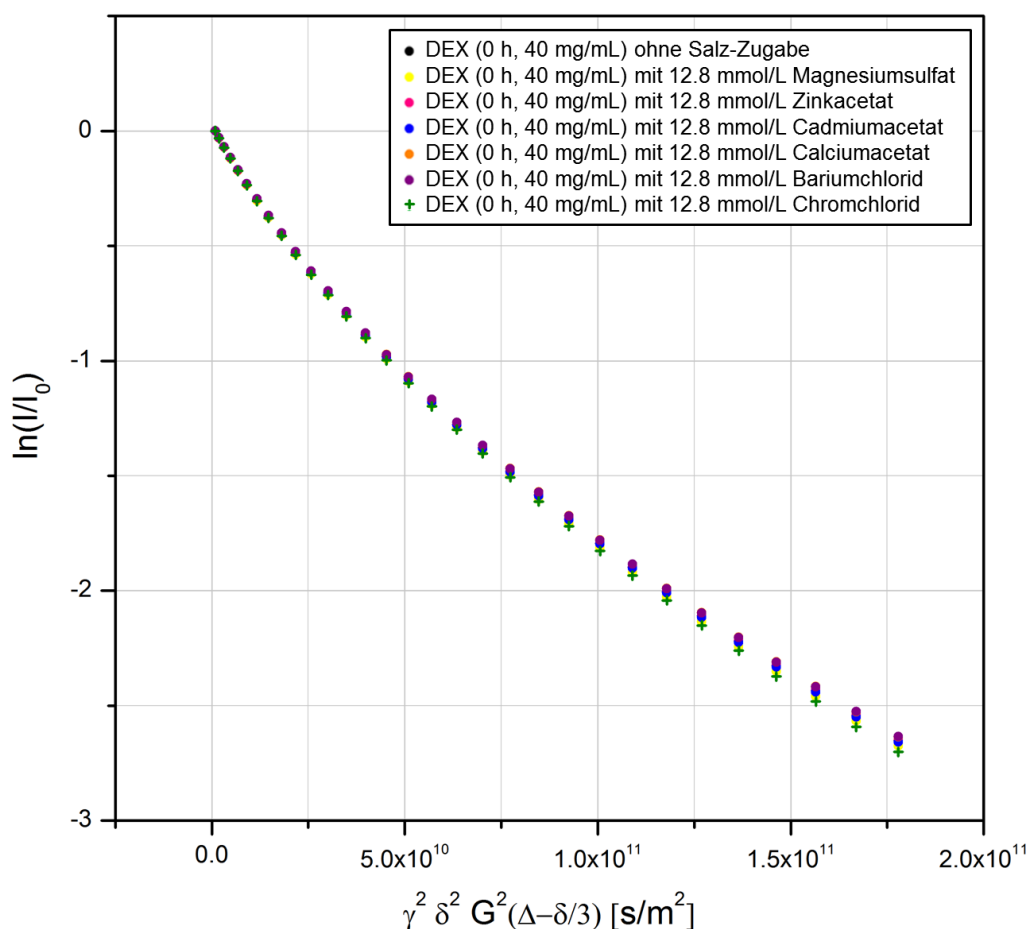


Abbildung 94: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Dextran-Lösungen in Gegenwart verschiedener Salze.

Auf Grund der großen Toxizität von Uranyl-Kationen und ihrer molekülzerstörenden Effekte, zu denen beispielsweise DNA-Strangbrüche zählen, wurde in separaten Experimenten der Einfluss von Uranylacetat auf Dextranmoleküle (sowie auf Hyaluronatketten, vgl. Abschnitt 5.4.2) und ihr Diffusionsverhalten untersucht.^[103] Abbildung 95 zeigt die zusammengefasste Darstellung der resultierenden Echozerfallskurven einer 40 mg/mL-Dextran-Lösung in Gegenwart variierender Konzentrationen UO_2Ac_2 . Ebenso wie im Falle der übrigen, hier verwendeten bivalenten Kationen zeigt sich auch hier kein gravierender Unterschied im Diffusionsverhalten der neutralen Polysaccharidmoleküle; die dargestellten Kurven sind nahezu deckungsgleich.

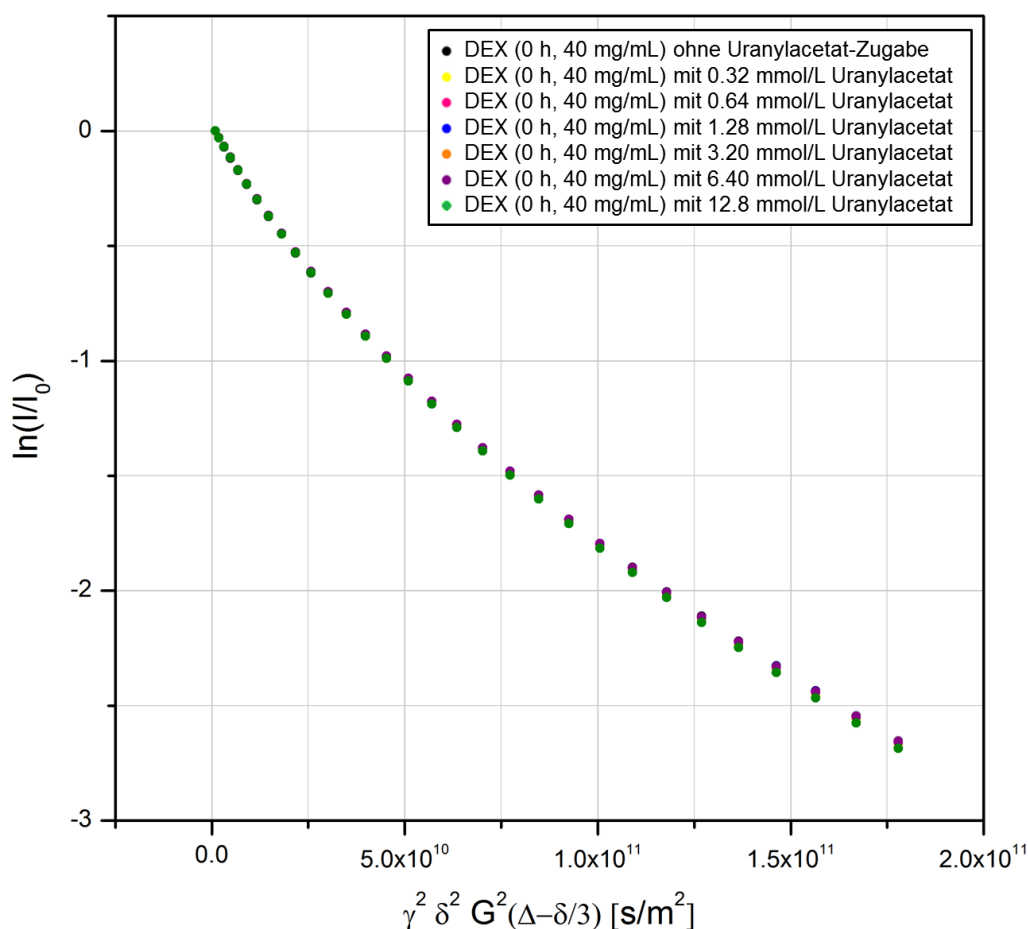


Abbildung 95: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Dextran-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen UO_2Ac_2 .

Um einen erst langfristig auftretenden Effekt der Uranylionen auf die Dextranmoleküle ausschließen zu können, wurden analoge Messungen an bereits erstellten Proben (Lagerung unter Standardbedingungen und Lichteinfluss) nach einem Zeitraum von etwa drei Monaten durchgeführt. Die Proben zeigten nach dieser zeitlichen Differenz keine erkennbaren Veränderungen der äußeren Charakteristika, wie Verfärbungen oder Trübungserscheinungen. Auch die Echozerfallskurven (ohne Abbildung) zeigen keine nennenswerten Abweichungen vom vorherigen Verlauf. Da ein Abbau des Dextrans und eine damit einhergehende Kettenverkürzung sich ebenfalls in der Linienbreite der zugehörigen NMR-Spektren abzeichnen würden, wurden hierzu ebenfalls Vergleiche angestellt. Abbildung 96 zeigt beispielhaft einen Ausschnitt aus dem NMR-Spektrum einer Dextran-Lösung in D_2O 10 h und ca. 2200 h nach Zugabe von 25.6 mmol/L Uranylacetat. Anhand dieser Darstellung lässt sich sagen, dass auch nach einer längeren Wirkspanne des Uransalzes keine Verringerung der Peakbreiten zu erkennen ist, so dass ein Abbau der Polymerketten unter dem Einfluss der Uranylkationen (innerhalb des betrachteten Zeitrahmens) ausgeschlossen werden kann.

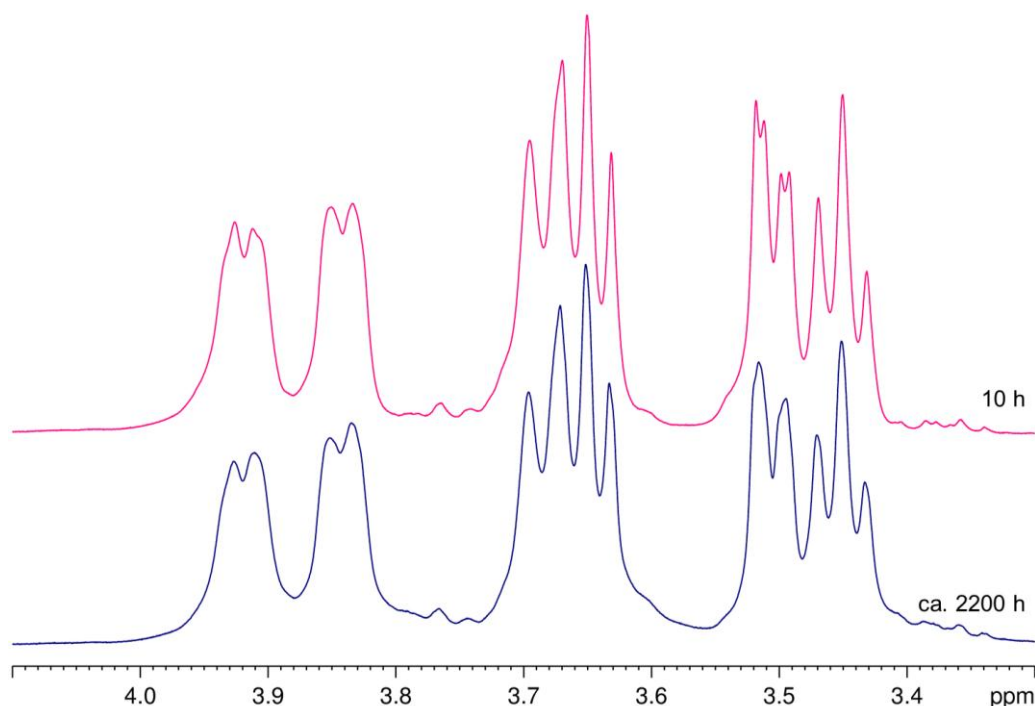


Abbildung 96: Darstellung der NMR-Spektren einer Dextran-Probe (40 mg/mL in D₂O) zum Vergleich der Peakbreiten, 10 h (pink) bzw. etwa 2200 h (blau) nach Zugabe von 25.6 mmol/L Uranylacetat.

Auf Grund ausbleibender Kettenspaltung bzw. der Abwesenheit von Abbauerscheinungen des Dextrans in Gegenwart von Uranylacetat kann weitestgehend vom Nichtvorhandensein einer strahlungsbedingten Degradation des Biopolymers ausgegangen werden.

5.4.2 Kernresonanzspektroskopische Analysen an Hyaluronat

Zum Zwecke der Wahl einer adäquaten Degradationsstufe des Natriumhyaluronats in Bezug auf die durchzuführenden NMR-Untersuchungen und die zugehörigen Peakbreiten sowie die zu erwartende Linienverbreiterung infolge der Salzzugaben wurden, analog zum Vorgehen beim Dextran (Abschnitt 5.4.1), die gelpermeationschromatographisch analysierten Abbauprodukte ebenfalls kernresonanzspektroskopisch betrachtet. Abbildung 97 zeigt die zugehörigen Echozerfallskurven der jeweiligen Proben. Generell findet man für die Hyaluronatlösungen für alle Graphen einen vom Linearen abweichenden, exponentiellen Verlauf, welcher aus der Molmassenverteilung des polydispersen Materials und dem Vorhandensein mehrerer Diffusionskoeffizienten innerhalb einer Probe resultiert.

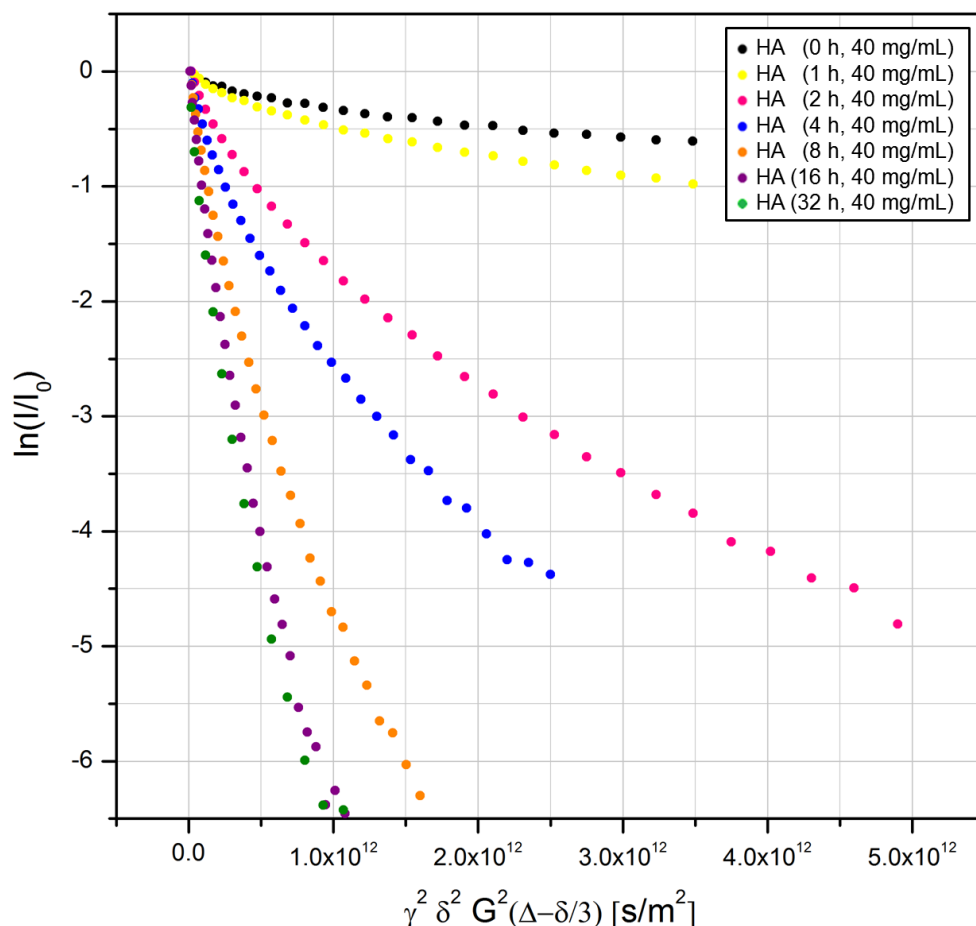


Abbildung 97: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Hyaluronat-Lösungen unterschiedlicher Abbaustufen in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

Abbildung 98 zeigt den zugehörigen, exemplarischen Vergleich der Peakbreiten/-intensitäten bzw. der Spektrenauflösung anhand von aufgereinigtem und 16 h abgebautem Hyaluronat. Auf Basis dieser Ergebnisse, der Viskositäten der Polymerlösungen und nicht zuletzt auf Grund der zu erwartenden Peakbreite nach Salzzugabe, fiel die Wahl der geeigneten Degradationsstufe auf ein etwa zwei Stunden lang beschalltes Produkt. Die Ergebnisse der Ultraschallbehandlung, sprich die erhaltenen Molmassen(verteilungen), zeigen sich dabei leider nicht immer einheitlich, sie weisen eine gewisse Abhängigkeit z. B. von der Umgebungstemperatur während des Degradationsprozesses, der Lösungsmittelmenge bzw. der Polymerkonzentration u. ä. auf. Angesichts dieser Tatsache wurde des Weiteren auf der Grundlage der Abbauprodukte, deren gelpermeationschromatographisch ermittelten M_W -Werten sowie den kernresonanzspektroskopisch bestimmten Linienbreiten auf halber Peakhöhe eine Kalibrierungskurve erstellt. Die Auftragung der Halbhöhenpeakbreiten in Abhängigkeit von der mittleren Molmasse der Natriumhyaluronat-Abbauprodukte ist in Abbildung 99 wiedergegeben; die Auftragung der Breitenwerte in Abhängigkeit von der Abbauproduktzeit ist dem Anhang zu ent-

nehmen (Abb. A-116). Die Kurvenanpassung erfolgte jeweils mit Hilfe eines exponentiellen Fits.

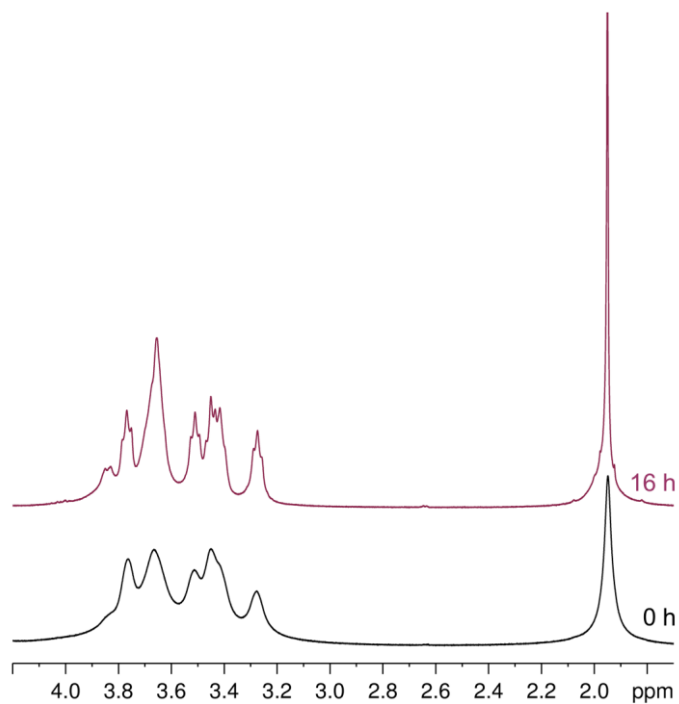


Abbildung 98: Ausschnitt der NMR-Spektren von 0 h und 16 h beschalltem Natriumhyaluronat.

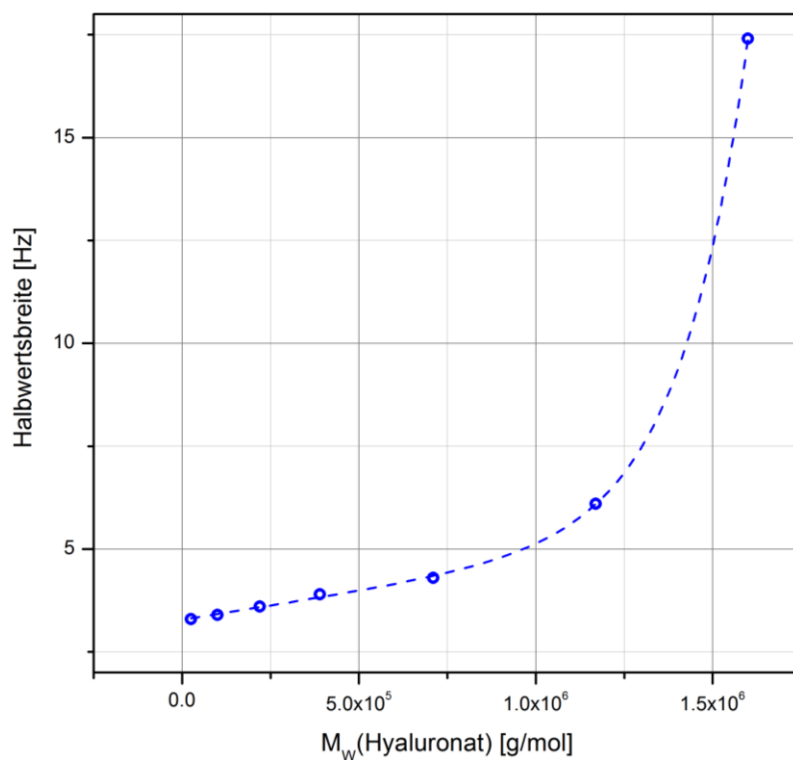


Abbildung 99: Auftragung der Halbhöhenpeakbreiten unterschiedlich degradiertter Hyaluronat-Proben in Abhängigkeit von deren mittlerer Molmasse.

Auf Basis dieser Kalibrationskurven konnten die Molmassen der verwendeten Hyaluronat-Chargen jeder Messreihe bestimmt werden; diese liegen für die durchgeführten NMR-Experimente zwischen 600000 und 750000 g/mol, gemäß Abb. A-116 entspräche dies einem Abbauzeitraum von ca. 2-3 h (zwecks Vereinfachung der Darstellung wird innerhalb der Auftragungen stellvertretend lediglich die äquivalente Abbauzeitspanne des Polysaccharids angegeben). Trotz einfacherer Handhabung der Proben im Falle geringerer Molmassen wurde hier von einem stärkeren Abbau des Ausgangsmaterials abgesehen, da Molekülketten mit einbeziehende Wechselwirkungen im Falle kürzerer Polymerketten eventuell weniger deutlich ausgeprägt und somit schwerer erkennbar und interpretierbar wären. So würde beispielsweise ein Verknäueln langer Moleküle im Gegensatz zu kurzen Polymersträngen mit einem vergleichsweise prägnanten Abfall der Lösungsviskosität und einem klaren Anstieg der Diffusionsgeschwindigkeit verbunden sein.

Wie auch im Falle der NMR-Analysen an Dextran werden auch in diesem Kapitel lediglich repräsentative Graphen zum Verhalten des Hyaluronats ausgewählt und wiedergegeben; darüber hinausreichende Graphen und Übersichten sind dem Anhang zu entnehmen (Abb. A-117 bis A-122).

Abbildung 100 beinhaltet die Echozerfallskurven von 40 mg/mL Natriumhyaluronat-Lösungen jeweils in Gegenwart und Abwesenheit unterschiedlicher Mengen Bariumchlorid.

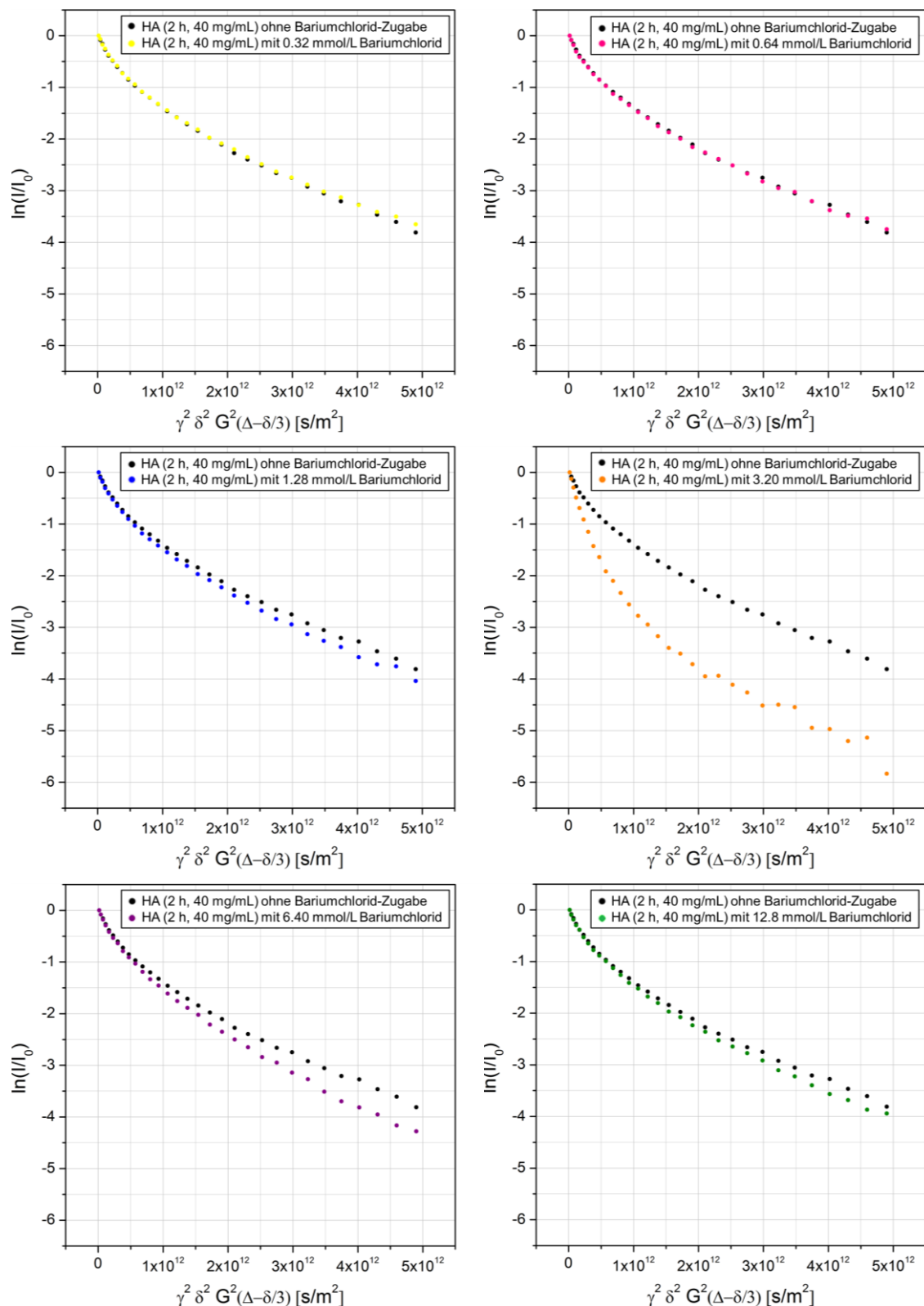


Abbildung 100: Separierte Auftragung der Echozerfallskurven der PFG-NMR-Untersuchungen an Hyaluronat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen BaCl_2 zur Veranschaulichung des Kationeneffekts.

Eine Zusammenfassung der hier dargestellten Echozerfallskurven ist dem Diagramm im Anhang zu entnehmen (Abb. A-122).

Betrachtet man die Entwicklung der Kurven infolge der Erhöhung der Bariumsalz-Konzentration, so wird deutlich, dass zunächst bis zu einer Zugabemenge von ca. 3.2 mmol/L BaCl_2 (orange) ein Anstieg der Diffusionsgeschwindigkeit, einhergehend mit einem stärkeren Kurvenabfall, auftritt. Bei darüber hinausreichenden, größeren Salzkonzentrationen hingegen beobachtet man einen Rückgang der Diffusionsgeschwindigkeit, bis sich der Kurvenverlauf bei 12.8 mmol/L BaCl_2 (grün) wieder dem in Abwesenheit mehrwertiger Kationen aufgezeichneten Graphen (schwarz) annähert. Erläutern lässt sich dieses Verhalten auf Basis der anfänglichen Ausbildung intramolekularer Komplexe, entsprechend der Anbindung von Ba^{2+} -Ionen durch Monomereinheiten eines Hyaluronatmoleküls. Verbunden ist dies mit einem Verknäueln bzw. einer Verkleinerung des hydrodynamischen Volumens des Polysaccharids, ein Vorgang, der sich in einem größeren durchschnittlichen Diffusionskoeffizienten äußert. Durch weitere Zugabe von bivalenten Kationen kommt es dazu, dass einzelne Polyelektrolytketten bereits weitestgehend abgesättigt respektive (sterisch) nicht dazu fähig sind, ein Ba^{2+} -Teilchen vollständig zu komplexieren. Auf Grund dieser Tatsache kommt es zu intermolekularen Wechselwirkungen und der Anbindung der Bariumionen an mehrere Zuckermoleküle. Dies resultiert in der Bildung größerer Polymeraggregate, deren eingeschränkte Beweglichkeit innerhalb der Lösung zu einer verlangsamten Diffusion des Hyaluronats führt (Abb. 101).

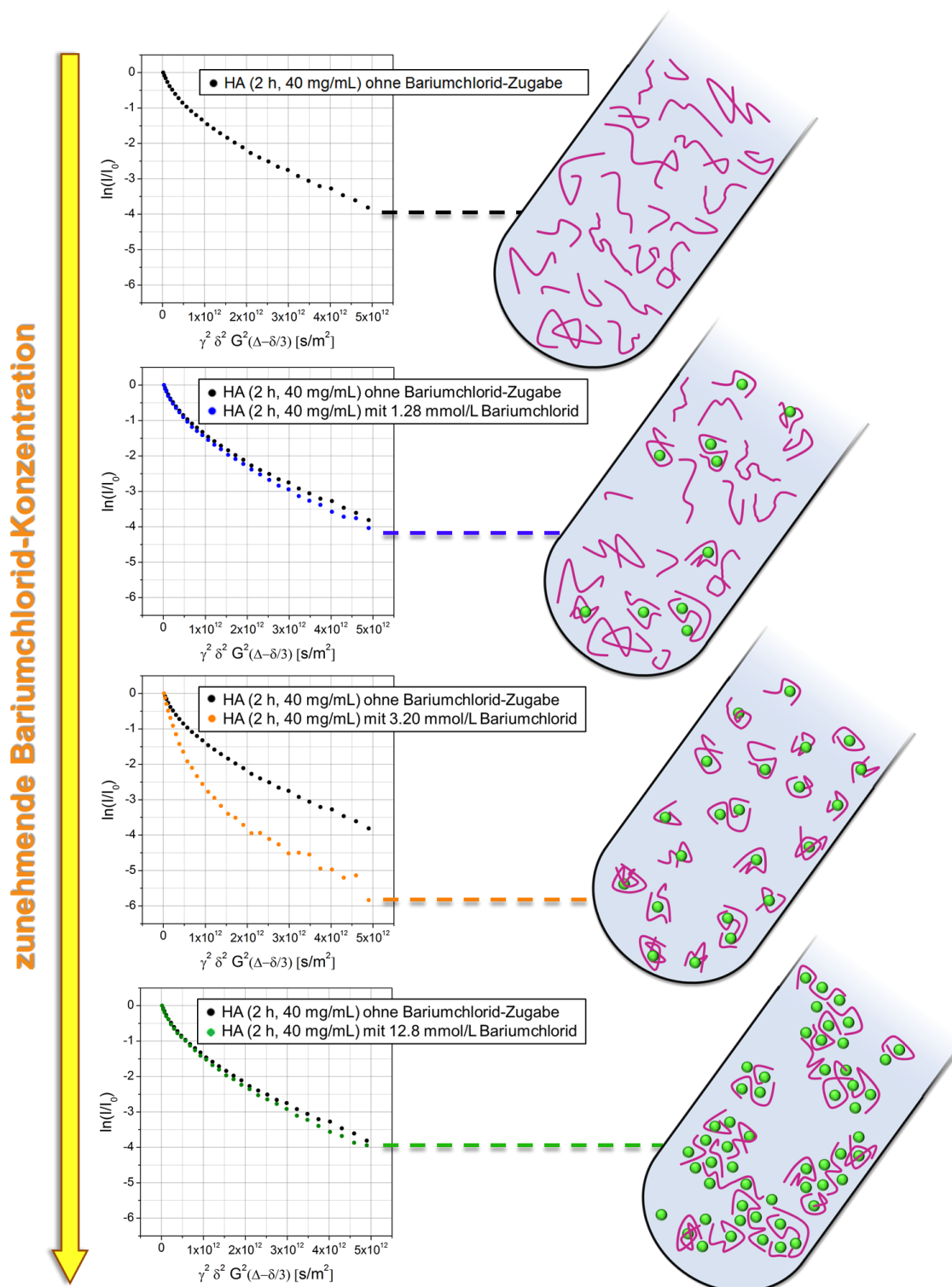


Abbildung 101: Darstellung zur Erläuterung des Verlaufs der Echozerfallsdaten resultierend aus PFG-NMR-Messungen an einer Hyaluronat-Lösung (40 mg/mL in D₂O) in Gegenwart unterschiedlicher Mengen BaCl₂.

Zu der obigen Messreihe analoge NMR-Untersuchungen an Hyaluronat unter Zusatz von Magnesiumsulfat liefern die in Abbildung 102 zusammengestellten Ergebnisse.

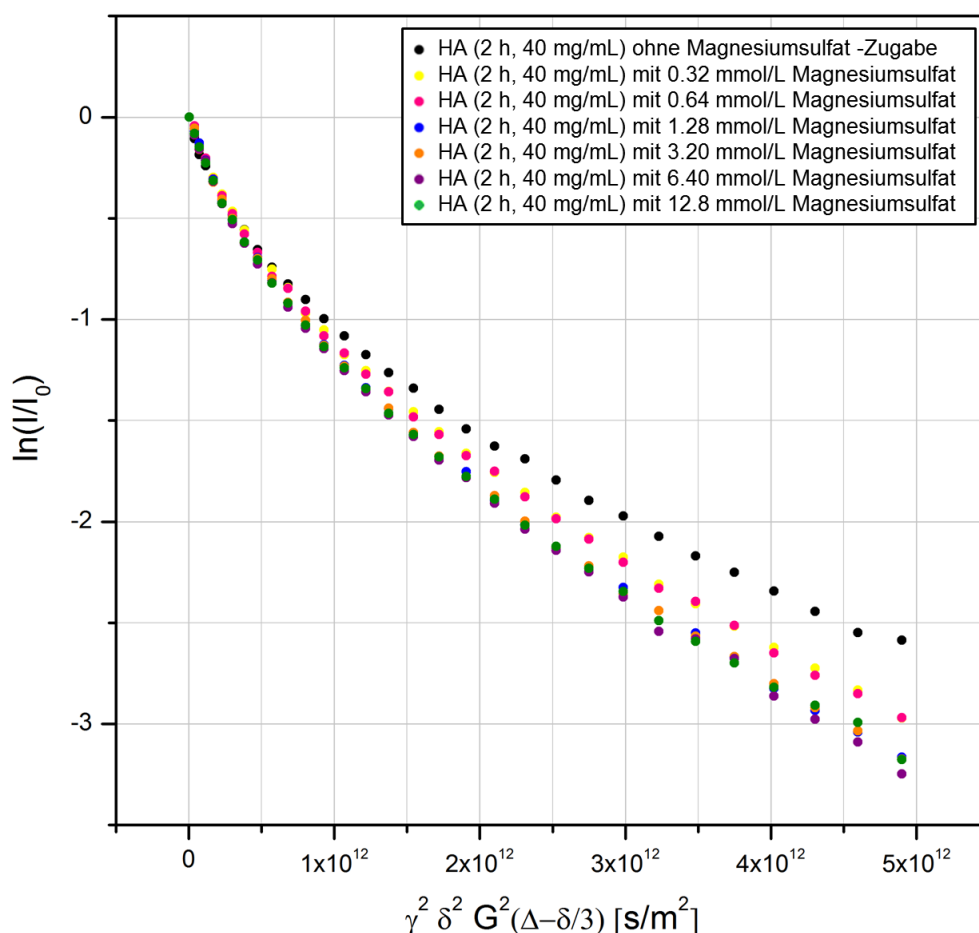


Abbildung 102: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Hyaluronat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen MgSO_4 .

Auch hier liegt man im Falle kleinerer Salzkonzentrationen zunächst einen Anstieg der Diffusionsgeschwindigkeit vor. Weitere Erhöhung der MgSO_4 -Konzentration scheint hier allerdings nur noch einen geringen Einfluss auf das Diffusionsverhalten der Polysaccharidmoleküle auszuüben. Der bei mittlerer Salzkonzentration nahezu stagnierte Kurvenverlauf scheint beim höchsten verwendeten Magnesiumsulfat-Gehalt in der Lösung lediglich geringfügig rückläufig. Ein Grund für die Erscheinungsmerkmale könnte die mit dem Ionenradius in Beziehung stehende Komplexstabilität sein. So könnte eine reduzierte Komplexstabilität dazu führen, dass die sterische Hinderung zur Bildung größerer Aggregate einen vergleichsweise starken Einfluss auf das Verhalten des Systems und die auftretenden Wechselwirkungen zwischen Polymermolekülen und bivalenten Kationen hat. Um den Aspekt eines möglichen, aus unterschiedlichen Kationenradien herrührenden Effekts genauer zu analysieren, wurde eine vergleichende Hyaluronat-Messreihe auf Basis gleicher Konzentrationen an MgSO_4 , ZnAc_2 , CdAc_2 , CaAc_2 sowie BaCl_2 angefertigt (ein Überblick über die zugehörigen Ionenradien ist in Tabelle 13 gegeben). Hierbei wurde mit 12.8 mmol/L Salzkonzentration die höchste der generell betrachteten Zugabemengen als Wert gewählt, um den Bereich möglicher Ag-

gregatbildungen in Augenschein zu nehmen. Die auf diese Weise erhaltenen Echozerfallskurven sind in Abb. 103 zusammengestellt.

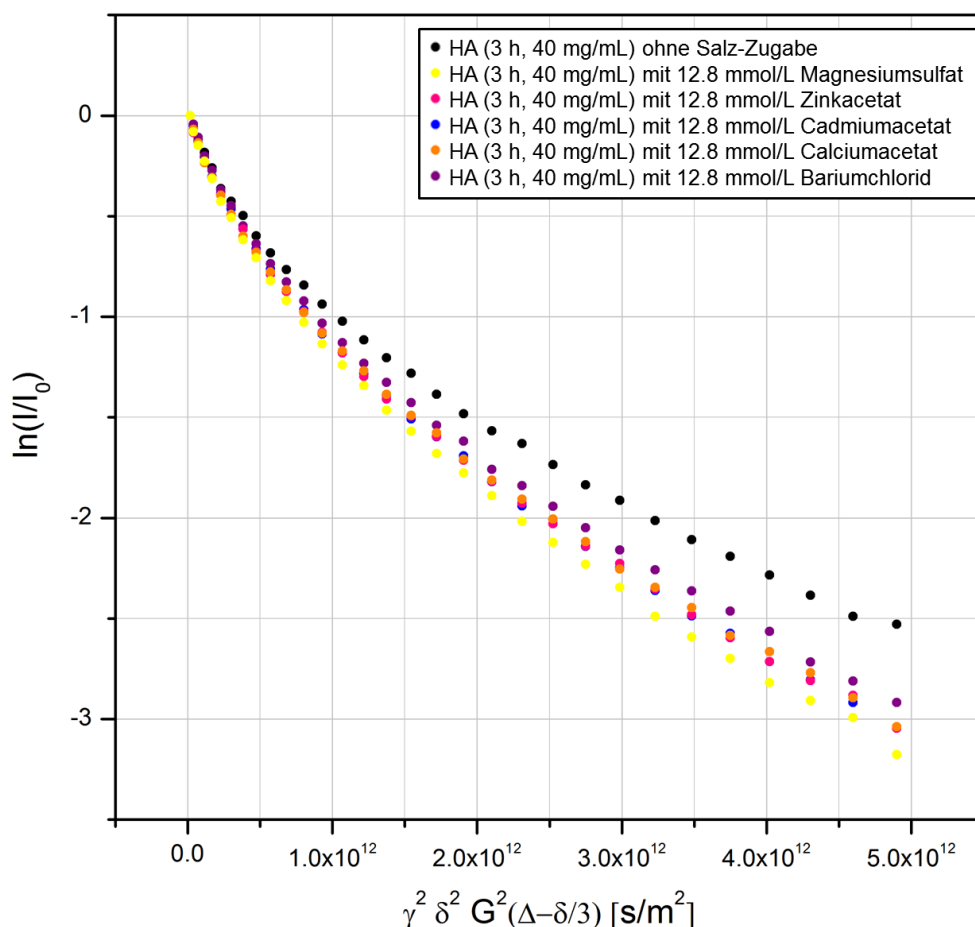


Abbildung 103: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Hyaluronat-Lösungen in Gegenwart verschiedener Salze.

In der obiger Auftragung ist deutlich die Abhängigkeit der Bildung größerer Komplexsysteme vom Durchmesser der bivalenten Ionen zu erkennen. Die von einer abfallenden Diffusionsgeschwindigkeit begleitete Aggregatbildung ist im Falle des Bariums augenscheinlich ausgeprägter als bei den übrigen Salzen, die Reihenfolge entspricht der der Ionenradien ($\text{Ba}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$).

Ein direkter Vergleich mit dem zugehörigen Kurvenverlauf des Graphen unter Zugabe von 12.8 mmol/L Chromchlorid, wie sie im Falle des Dextrans in Abschnitt 5.4.1 (vgl. Abb. 94) erfolgte, ist an dieser Stelle leider nicht möglich. So führte eine entsprechend hohe Dosierung des trivalenten Metallkationen enthaltenden Salzes zu einer direkten Gelierung des Hyaluronatsystems, ein Prozess, der eine vollständige Probendurchmischung, -handhabung sowie -analyse verwirkte. Die Betrachtung des Natriumhyaluronats in Gegenwart von Cr^{3+} -Ionen mittels der auf gepulsten Feldgradienten basierenden Messtechnik fand dementspre-

chend separat statt. Abbildung 104 umfasst die Echozerfallskurven einer Lösung von 40 mg/mL Natriumhyaluronat in deuteriertem Wasser in Anwesenheit unterschiedlicher (geeignet gering gewählter) Mengen Chromchlorid. Es ist deutlich zu erkennen, dass selbst im Falle kleiner Cr^{3+} -Konzentrationen eine Verlangsamung der Diffusionsgeschwindigkeit der Polysaccharidmoleküle zu verzeichnen ist. Dieses Phänomen wird begleitet durch eine mit bloßem Auge erkennbare Steigerung der Lösungsviskosität. Es ist anzunehmen, dass diese Aspekte und die ihnen zugrunde liegenden intermolekularen Wechselwirkungen auf die erhöhte Ladung des Metallkations zurückzuführen sind, welche zu einer schnelleren Absättigung des Polyelektrolyten führt und eine Komplexierung einzelner Chromionen durch mehrere Zuckerketten wahrscheinlicher macht.

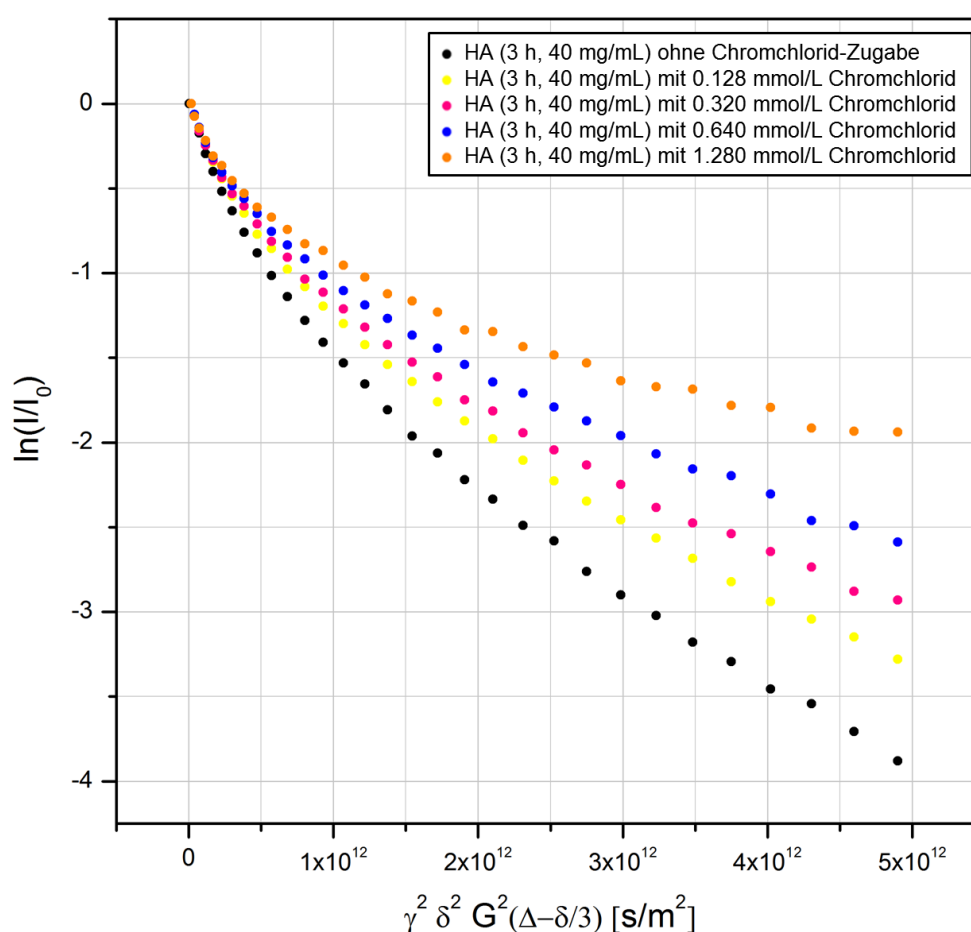


Abbildung 104: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Hyaluronat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CrCl_3 .

Diese Resultate bilden die Grundlage eines weiteren, mittels PFG-NMR-Experimenten zu untersuchenden Gesichtspunkts im Zusammenhang mit dem Polyelektrolyt Hyaluronat: die Abhängigkeit der Aggregatbildung von der Biopolymerkonzentration. Zu diesem Zweck wurden Natriumhyaluronat-Proben mit Konzentrationen von 2.5, 10, 20 und 40 mg/mL angesetzt und deren Diffusionsverhalten in An- und Abwesenheit von CrCl_3 betrachtet. Die Salzkonzentrationen waren dabei konstant gehalten.

zentrationen wurden dabei im Hinblick auf den jeweiligen Ladungsausgleich im entsprechenden Verhältnis zur Polymerkonzentration gewählt. Die Zusammenfassung der aus diesen Untersuchungen hervorgehenden Graphen ist in Abbildung 105 dargestellt.

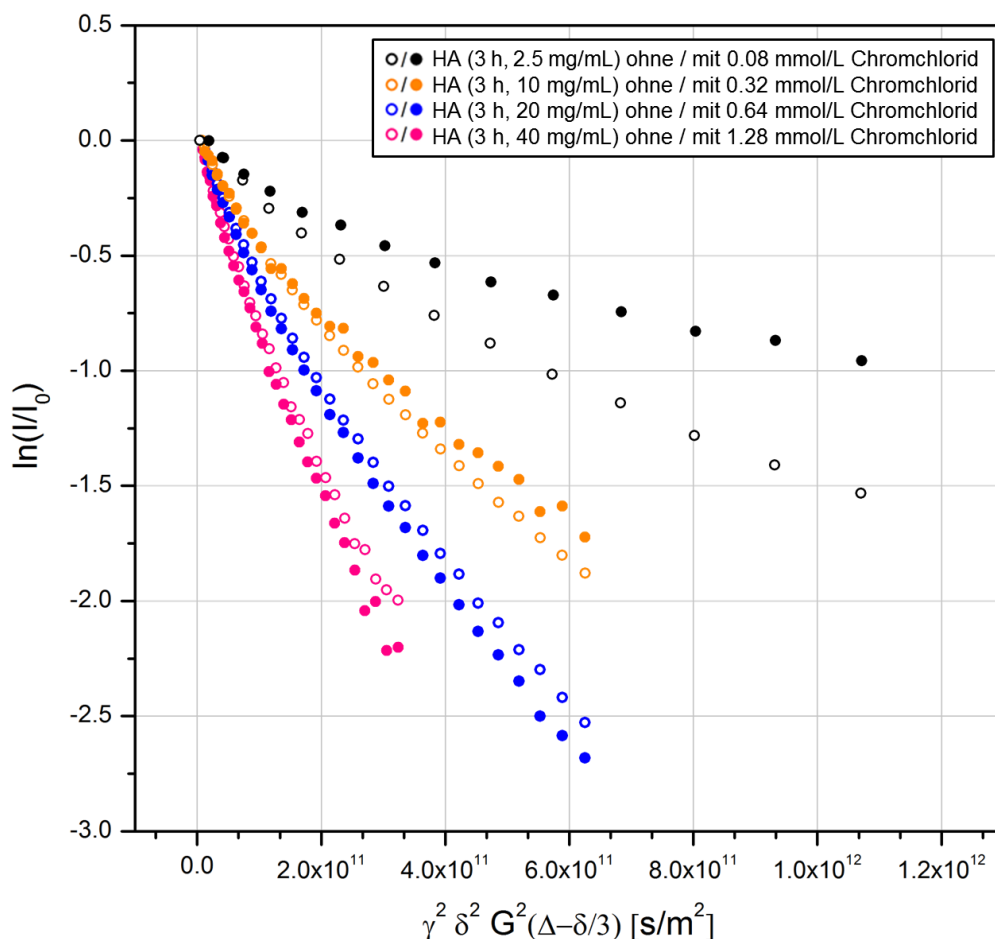


Abbildung 105: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an unterschiedlich konzentrierten Hyaluronat-Lösungen in Gegenwart entsprechender Mengen CrCl_3 .

Die obigen Echozerfallskurven implizieren, dass für größere Polyelektrolytkonzentrationen (hier 20 bzw. 40 mg/mL) eine Verlangsamung der Hyaluronat-Diffusion eintritt, wohingegen für geringere Biopolymerkonzentrationen eine erhöhte Diffusionsgeschwindigkeit vorgefunden wird. Diese Ergebnisse können dadurch erläutert werden, dass durch eine Absenkung der Polysaccharidkonzentration die statistische Wahrscheinlichkeit zur Komplexierung eines Cr^{3+} -Ions durch lediglich ein langkettiges Molekül im Vergleich zur intermolekularen Komplexierung steigt. Im Vergleich zu größeren solvatisierten Hyaluronatmengen findet man hier vermehrte Polymerverknäuelungen und einen geringeren Anteil an vernetzten Strukturen, so dass insgesamt eine schnellere Diffusion resultiert.

Entsprechende PFG-NMR-Experimente am Polyelektrolyt Hyaluronat in Bezug auf die Abhängigkeit der Aggregatbildung von der Biopolymerkonzentration wurden auch auf Basis von zweiwertigen Magnesiumionen durchgeführt. Hierzu wurde eine (auflösungsbedingt) möglichst geringe Natriumhyaluronat-Konzentration von 10 mg/mL gewählt und MgSO_4 in entsprechenden Mengen zugefügt. Abbildung 106 beinhaltet die ermittelten Echozerfallskurven.

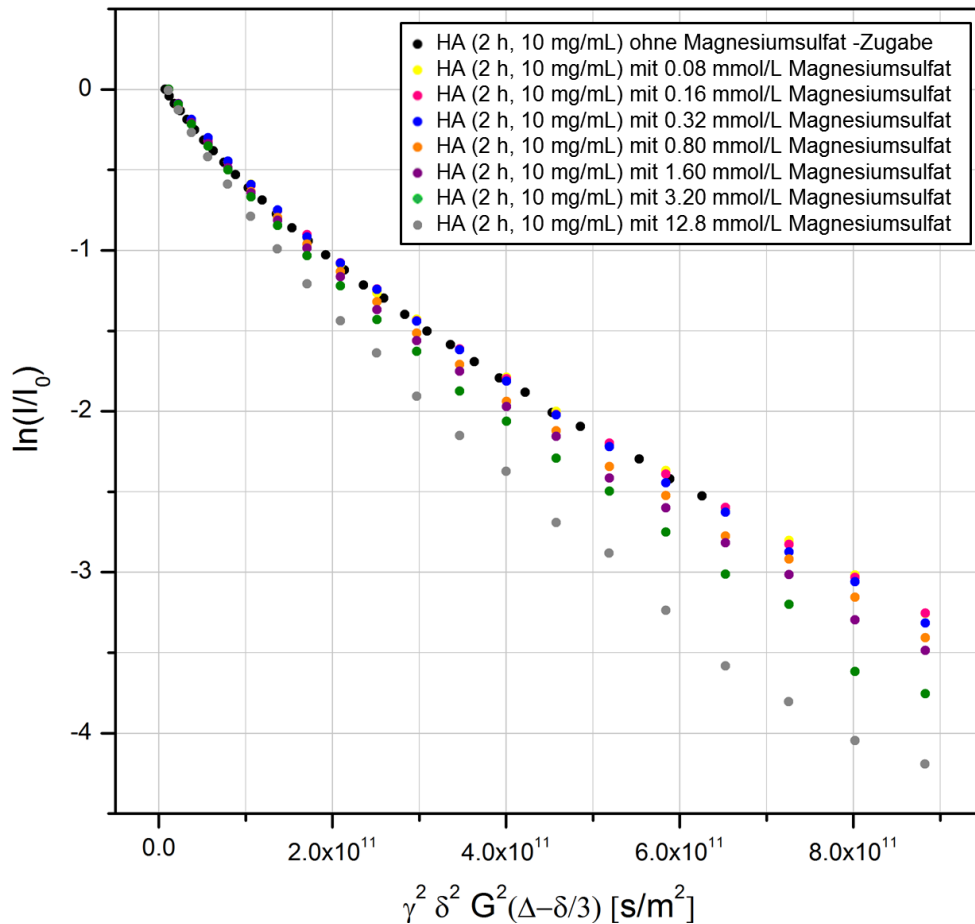


Abbildung 106: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an geringer konzentrierten Hyaluronat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen MgSO_4 .

Die obigen Graphen zeigen, dass trotz der im Vergleich zu den Standardparametern deutlich höher gewählten maximalen Salzkonzentration (12.8 mmol/L MgSO_4 bei einem Viertel der standardmäßig genutzten HA-Konzentration, vgl. Abb. 102) keine ersichtliche Verlangsamung der Polymerdiffusion eintritt. Dies kann (analog zu den Experimenten unter CrCl_3 -Zugabe) dadurch begründet werden, dass die statistische Wahrscheinlichkeit zur Absättigung der Polyelektrolytketten durch freie Mg^{2+} -Ionen im Falle einer niedrigen Mehrfachzucker-Konzentration deutlich höher ist, als die zur Anbindung von bereits teilweise durch andere Hyaluronatmoleküle komplexierten Kationen. Hieraus resultiert eine immer stärkere Polymerkettenverknäuelung ersichtlich anhand der schnelleren Polysaccharid-Diffusion. Eine

solche rein intramolekulare Komplexbildung erläutert das nahezu konstante, stöchiometrische Verhältnis von bivalentem Kation zu Monomereinheiten, welches im Rahmen früherer Arbeiten (am „Äquivalenzpunkt“) bestimmt wurde. Die Basis der Analysen bildeten hierbei messtechnisch bedingt gering konzentrierte Polysaccharidlösungen mit Zuckergehalten bis 3.0 mg/mL.^[12, 13]

Im Einklang mit den Untersuchungen an Dextran wurden auch im Falle des Hyaluronats NMR-Experimente auf Basis gepulster Feldgradienten in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen an Uranylacetat durchgeführt. Die auftretende Kationenanbindung durch den anionischen Mehrfachzucker konnte dabei bei größeren Salzmengen leicht anhand der einsetzenden Gelbildung festgestellt werden. Diese Gelierung erschwerte das vollständige Durchmischen der Probenansätze ebenso wie das anschließende Umfüllen selbiger. Aus diesem Grund konnten die eigentlichen Messungen erst etwa 3 bis 6 h nach der Uransalz-Zugabe gestartet werden. Die erhaltenen Echozerfallskurven sind der folgenden zusammenfassenden Auftragung zu entnehmen (Abb. 107).

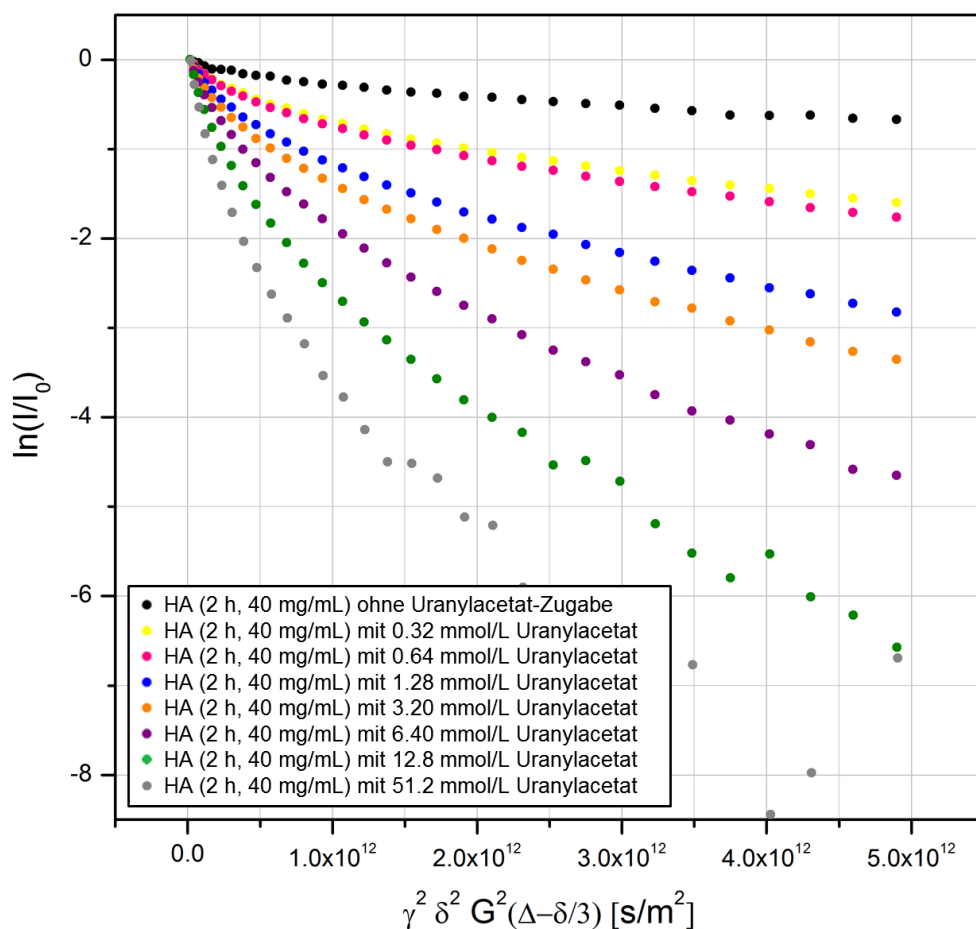


Abbildung 107: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Hyaluronat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen UO_2Ac_2 .

Die obigen Graphen suggerieren eine durchgängige Zunahme der Diffusionsgeschwindigkeit mit zunehmender Uranylacetatmenge. Dies stellt eine Abweichung von dem zuvor beobachteten Verhalten gleich konzentrierter Hyaluronat-Proben in Gegenwart analoger Mengen bivalenter Kationen dar. Eine Abnahme der Diffusionsgeschwindigkeit infolge erhöhter Salzzugaben und der damit verbundenen Bildung größerer Polymeraggregate scheint hier vollständig auszubleiben. Da bereits in früheren Untersuchungen ein kettenspaltender Effekt von Uranverbindungen auf bestimmte Biopolymere festgestellt wurde und Hyaluronderivate dazu neigen, durch unterschiedliche äußere Einflüsse degradiert zu werden, sollte zudem eine Überprüfung der Auswirkungen des Uranyls auf den HA-Polymerisationsgrad durchgeführt werden.^[103, 151-153] Zu diesem Zweck wurden in einem Langzeitversuch die Linienbreiten einer 25.6 mmol/L UO_2Ac_2 enthaltenden Hyaluronat-Probe (40 mg/mL) in Augenschein genommen. Abbildung 108 zeigt den Vergleich der gemessenen Spektren der Probe 27, 244 und 1649 h nach Zufügen des Salzes. (Abbildung A-123 beinhaltet eine Auftragung der mittleren Diffusionskoeffizienten der Probe in Abhängigkeit von der Wirkzeit des Uranylacetats einschließlich polynomineller Kurvenanpassung.)

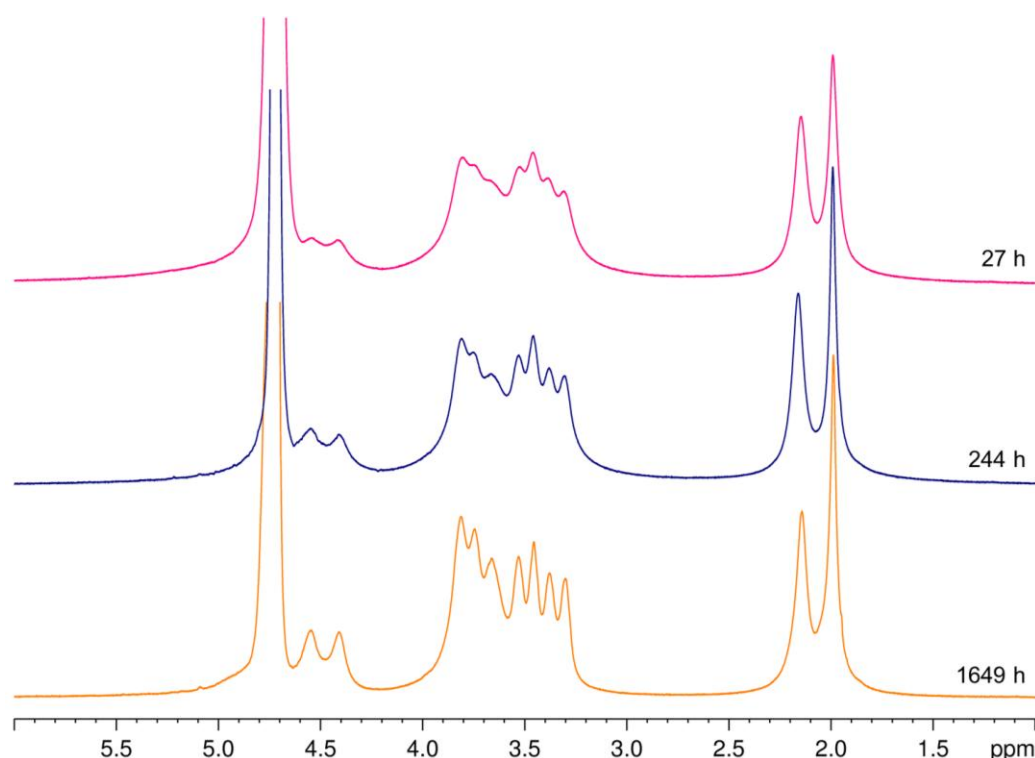


Abbildung 108: Darstellung der NMR-Spektren einer Hyaluronat-Probe (40 mg/mL in D_2O) zum Vergleich der Peakbreiten, 27 h (pink), 244 h (blau) und 1649 h (orange) nach Zugabe von 25.6 mmol/L Uranylacetat.

Abbildung 108 ist zu entnehmen, dass mit zunehmender Wirkzeit der Uran-Verbindung eine deutlich verbesserte Spektrenauflösung in Form geringerer Linienbreiten und höherer Peak-

intensitäten zu finden ist. Dies lässt vermuten, dass in Gegenwart des Uranylacetats ein Abbau des Hyaluronats eintritt, welcher diese Aspekte begründet. Eine mögliche Erklärung dieser Degradation wäre ein der sog. ORD-Reaktion (oxidative-reductive depolymerisation) entsprechender Mechanismus.^[151, 153] So wurde bereits im Rahmen früherer Untersuchungen gefunden, dass Hyaluronsäurederivate in Anwesenheit reduzierender Agenzien und Sauerstoff irreversibel abgebaut werden, ein Hergang welcher sich unter anderem in einem „spontanen“ Rückgang der Lösungsviskosität äußert. Mögliche Reduktionsmittel können hierbei z. B. Ascorbinsäure, Thiole oder auch Metallionen wie Eisen- bzw. Kupferionen sein.^[151-153] Eine Vielzahl der Charakteristika der ORD-Reaktion suggerieren den Vorgang über einen Freien-Radikal-Mechanismus.^[151]

Analoge Viskositätsverringerungen von Lösungen der Hyaluronsäure (bzw. anderer Polymere, speziell Carboxylgruppen enthaltende) können allerdings auch das Ergebnis der Einflusses von β -, γ - sowie Röntgen-Strahlung, ultravioletten bzw. sichtbaren Lichts oder Ultraschallwellen sein.^[151, 152] Es gilt zu erwähnen, dass auf Grund dieses Aspektes, dass auch sichtbares Licht einen Effekt auf die Degradation von Hyaluronsäure ausüben kann und weitere mögliche Depolymerisationsursachen ausgeschlossen werden sollten, alle Uranylacetat beinhaltenden Proben zwischen den NMR-Messungen, falls nicht anders erwähnt, unter Lichtausschluss aufbewahrt wurden. So zeigten nicht unter diesen Kriterien gelagerte Proben nach einer Zeitspanne von mehreren Stunden bis Tagen bereits eine deutliche Abweichung von ihrem sonst einheitlich klaren, hellgelblichen Erscheinungsbild. Braune Verfärbungen sowie das Absetzen einer deutlich dunkler gefärbten Phase waren hierbei erkennbar. Dieses Phänomen geht einher mit einem gesteigerten Kettenabbau des Hyaluronats, wie anhand von Abbildung 109 erkennbar ist. Diese Darstellung beinhaltet eine Auftragung der mittleren Diffusionskoeffizienten einer 40 mg/mL-Hyaluronat-Lösung in D₂O in Gegenwart von 6.4 mmol/L UO₂Ac₂, welche weitestgehend unter Lichtausschluss verwahrt wurde, in Abhängigkeit von der Wirkzeit der Uranverbindung. Die Probe wurde hierbei ca. 135 h nach der Salzzugabe für etwa 30 h dem Tageslicht ausgesetzt. Dem Verlauf der erhaltenen Messdaten ist zu entnehmen, dass durch die Einwirkung der Strahlung ein verstärkter Abbau eintritt, welcher allerdings nach Beendigung selbiger wieder zum „Ausgangsmaß“ (welches wahrscheinlich lediglich auf der Uraneinwirkung beruht) zurückkehrt.

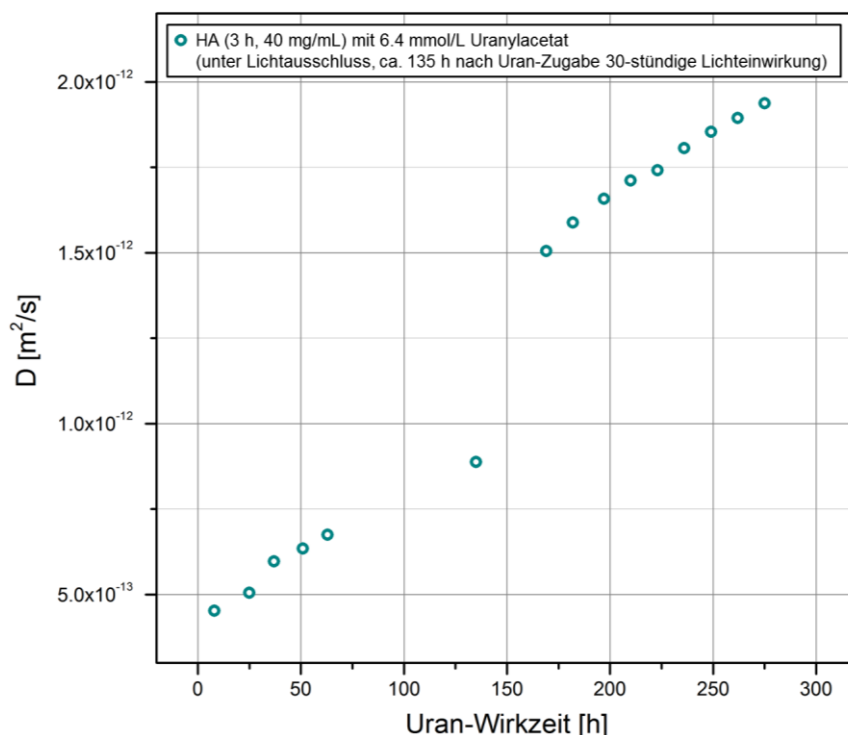


Abbildung 109: Auftragung der mittleren Diffusionskoeffizienten einer Hyaluronat-Probe (40 mg/mL in D₂O) nach Zugabe von 6.4 mmol/L Uranylacetat in Abhängigkeit von der Uran-Wirkzeit zur Untersuchung des Lichteinflusses (30-stündige Lichteinwirkung).

Das Ausmaß der Kettenspaltung durch die genannte ORD-Reaktion ist von zahlreichen Faktoren abhängig wie der Natur und der Konzentration des Reduktionsmittels, die Art und Ionenstärke des Solvents sowie dem Ausgangspolymerisationsgrad der Polysaccharids.^[151] Zur Untersuchung des Einflusses der Uranyl-Konzentration auf den Abbauprozess wurden zwei Proben mit unterschiedlichen Mengen UO₂Ac₂ (6.4 und 25.6 mmol/L) über einen längeren Zeitraum hin mittels PFG-NMR-Messungen betrachtet. Die resultierenden mittleren Diffusionskoeffizienten wurden gegen die jeweilige Uran-Wirkzeit aufgetragen und beide (polynominell gefitteten) Kurven in einem Diagramm zusammengefasst (Abb. 110).

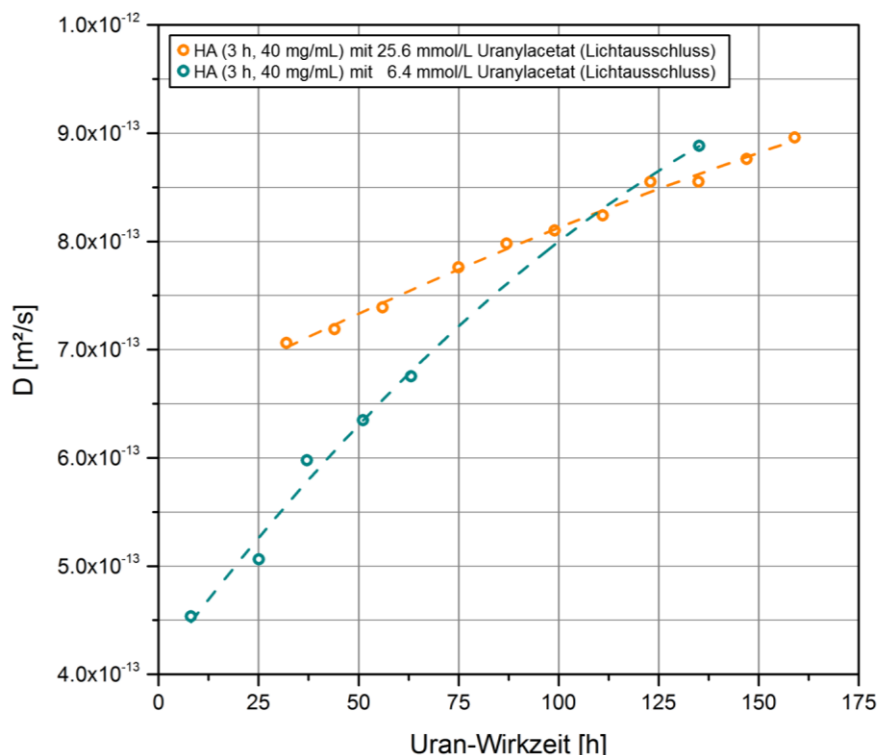


Abbildung 110: Auftragung der mittleren Diffusionskoeffizienten zweier Hyaluronat-Proben (40 mg/mL in D₂O) nach Zugabe von 6.4 bzw. 25.6 mmol/L Uranylacetat in Abhängigkeit von der Uran-Wirkzeit.

Der obigen Darstellung ist zu entnehmen, dass zwar beide Proben einen voneinander abweichenden Trend aufweisen, dieser allerdings nicht den Erwartungen entspricht. Den Steigungen der Kurven zufolge findet scheinbar in Gegenwart der geringeren Uranacetat-Konzentration eine schnellere Depolymerisation statt als im Falle der vierfachen Menge. Die Interpretation dieser Ergebnisse wird allerdings durch andere Faktoren erschwert, welche ebenfalls einen Einfluss auf den Diffusionskoeffizienten der Analyten oder auf den Abbauvorgang an sich ausüben. So liegen in beiden Proben auf Grund der divergenten Uranyl-Kation-Anzahl unterschiedliche Polysaccharidkomplexe bzw. -aggregate vor, welche einen grundsätzlichen Vergleich der Probenbeschaffenheiten und des Diffusionsverhaltens verkomplizieren. Darüber hinaus könnte ein ungleicher Sauerstoffgehalt innerhalb der Probenlösungen/-gefäße einen Einfluss auf die Kettenspaltungsprozesse haben, da dieser Wert als maßgebend für eine dem ORD-Modell zuzuordnende Reaktion zu betrachten ist.^[151] Zwecks Untersuchung des Effektes des O₂-Anteils in der Probe auf den Abbau der enthaltenen Hyaluronatmoleküle wurden weitere Experimente durchgeführt. Hierzu wurden zwei identische HA-Mengen in D₂O (40 mg/mL) solvatisiert, mit gleichen Uranylacetat-Mengen versetzt und umgefüllt. Anschließend wurde eine der Lösungen mehrmals evakuiert und das Probengefäß abgeschmolzen, um einen möglichst geringen Sauerstoffgehalt zu erzielen. Die anschließend über einen längeren Zeitraum aufgenommenen PFG-NMR-Messungen respektive die

daraus erhaltenen mittleren Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit von der Uran-Wirkzeit sind in Abbildung 111 veranschaulicht. Die Kurvenanpassung erfolgte hier für beide Messreihen mittels einer polynominellen Funktion.

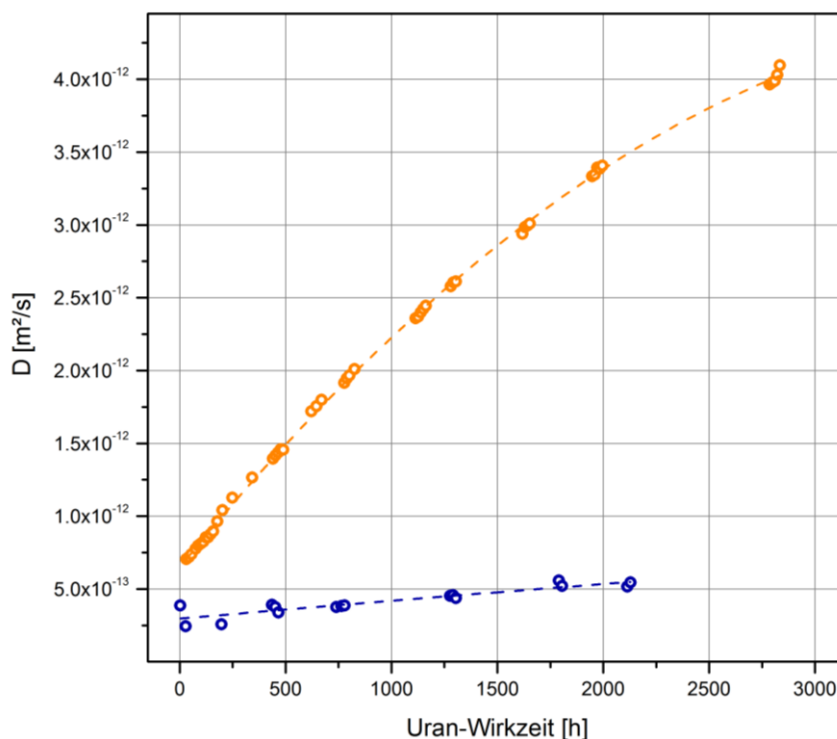


Abbildung 111: Auftragung der mittleren Diffusionskoeffizienten zweier Hyaluronat-Proben (40 mg/mL in D₂O) nach Zugabe von 25.6 mmol/L Uranylacetat in Abhängigkeit von der Uran-Wirkzeit.

Der oben stehenden Abbildung und der vergleichenden Betrachtung der Resultate lässt darauf schließen, dass in Ermangelung an Sauerstoff (blau gekennzeichnete Messdaten) lediglich eine geringfügige Depolymerisation vorzufinden ist, ein Aspekt, welcher die Degradation des Hyaluronats in Gegenwart von UO₂Ac₂ über einen ORD-Mechanismus bestätigt. Die Schwankungen der ermittelten Diffusionskoeffizienten im Falle der unter Vakuum stehenden Probe sind dadurch zu erklären, dass es innerhalb des Probengefäßes (durch den dort herrschenden Druck) zu einer dauerhaften Verdampfung und Kondensation des deuterierten Wassers kommt. Dies hat zur Folge, dass sich die Polysaccharidkonzentration innerhalb der Lösung kontinuierlich verändert, wodurch wiederum Schwankungen im Diffusionsverhalten der Makromoleküle begründet werden.

Zusammenfassend lässt sich bei der Betrachtung der Ergebnisse der PFG-NMR-Messungen an Hyaluronat in Gegenwart von Uranylacetat feststellen, dass die hier auftretende Degradation des Biopolymers bestimmte Auswirkungen auf seine Funktion ausüben kann. So stellt Hyaluronsäure als Hauptkomponente einiger Bindegewebsarten den ausschlaggebenden

Punkt für deren Viskosität und Gelcharakter dar.^[151] Veränderungen des Polymerisationsgrades des Mehrfachzuckers ziehen somit Folgen für eben diese Gewebeeigenschaften bzw. für die Permeabilität des jeweiligen Gewebes nach sich. Auch im Hinblick auf bakterielle Kolonien und Biofilme, welche Hyaluronderivate (oder ähnliche Polysaccharidtypen) einschließen, sind solche viskositätserniedrigenden Abbaureaktionen nicht zu vernachlässigen. So werden ähnliche Degradationsprozesse auch für Algin- sowie Pektinsäure gefunden, für welche ebenfalls ein dem ORD-Mechanismus entsprechender Ablauf vermutet wird.^[151] Die Schutz- oder Wasserspeicherfunktion solcher Makromoleküle innerhalb mikrobieller Systeme könnte durch eine Verkürzung ihrer Kettenlänge beeinträchtigt werden und die Depolymerisation ein Ablösen oder sogar Absterben des Gesamtsystems bedingen. Nicht zuletzt könnte ein solch folgenschwerer Prozess eventuell den Einsatz von Biofilmen und mikrobiellen Aggregaten in der Wasseraufbereitung/-reinigung aus diesem Grund erschweren. Andererseits wäre es auch denkbar, dass ein solcher Eingriff in die Systemstruktur der Organismen dazu führen könnte, eben diese zu einer gesteigerten Polysaccharidproduktion anzuregen. Dies würde wiederum eine vermehrte Anbindung toxischer Substanzen und Schwermetallionen ermöglichen.

5.4.3 Kernresonanzspektroskopische Analysen an Alginat

In Analogie zur Vorgehensweise im Falle der PFG-NMR-Untersuchungen an Dextran (Abschnitt 5.4.1) bzw. Hyaluronat (Abschnitt 5.4.2) wurden auch im Fall des Natriumalginats, zwecks Wahl einer adäquaten Degradationsstufe im Hinblick auf die durchzuführenden NMR-Experimente, die gelpermeationschromatographisch analysierten Abbauprodukte kernresonanzspektroskopisch betrachtet. Ausschlaggebend für die Auswahl der Degradationsstufe des algalen Polysaccharids waren dabei die resultierenden Peakbreiten sowie die zu erwartende Linienverbreiterung infolge der durchzuführenden Salzzugaben. Abbildung 112 zeigt die zugehörigen Echozerfallskurven dieser Messreihe. Generell findet man bei den verwendeten Algenalginat-Lösungen für alle Graphen einen stark vom Linearen abweichenden, exponentiellen Verlauf. Dieser resultiert aus der Molmassenverteilung des polydispersen Ausgangsmaterials und dem Vorhandensein mehrerer Diffusionskoeffizienten innerhalb einer Probe.

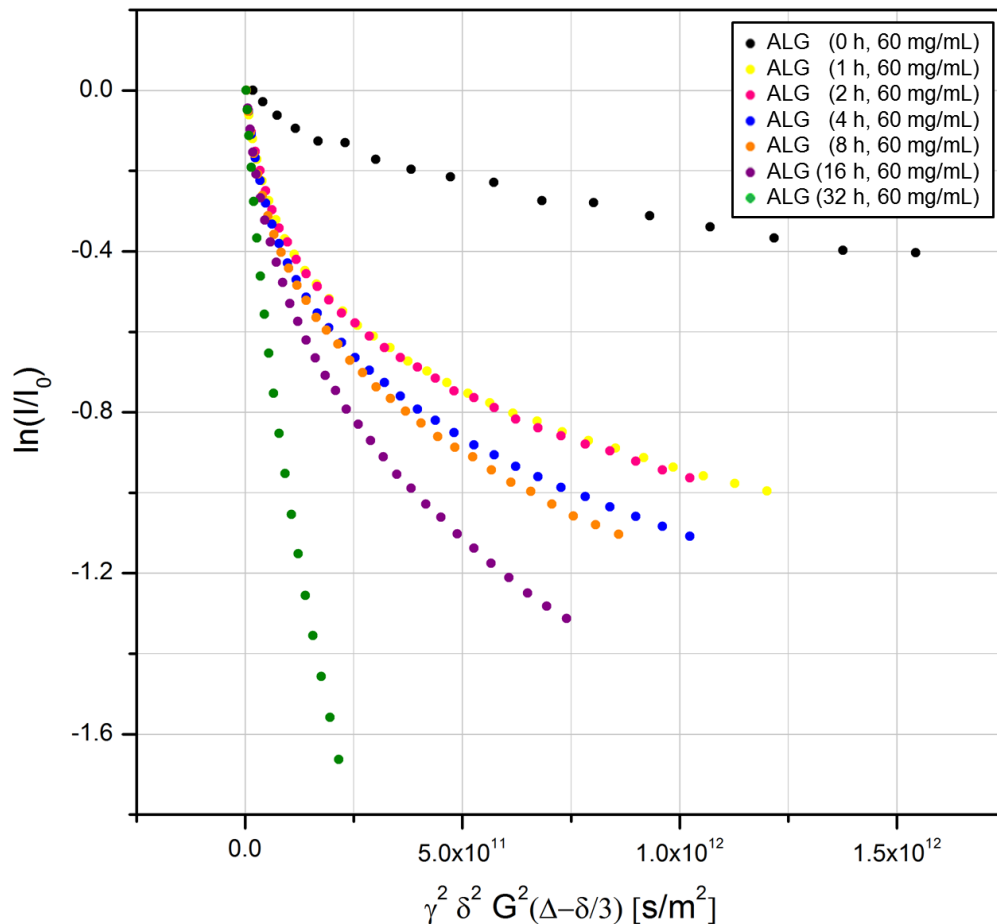


Abbildung 112: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Alginat-Lösungen unterschiedlicher Abbaustufen in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

Abbildung 113 zeigt den exemplarischen Vergleich der Peakbreiten auf Basis von aufgereinigtem und 16 h abgebautem Natriumalginat. Anhand dieser Ergebnisse, der Lösungsviskositäten und auf Grund der zu erwartenden Peakbreiten nach Zugabe der Salze, wurden Ausgangsmaterialien gewählt, deren Präparation Beschallungszeiten von zwei bis acht Stunden einschloss.

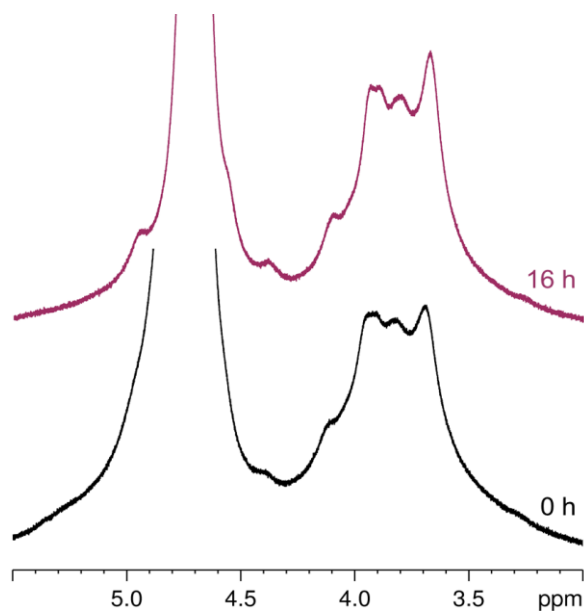


Abbildung 113: Ausschnitt der NMR-Spektren von 0 h und 16 h beschalltem Natriumhyaluronat.

Ebenso wie im Falle des Natriumhyaluronats wurde auch hier auf Grundlage der Degradationsprodukte, deren gelpermeationschromatographisch ermittelten M_W -Werten sowie den kernresonanzspektroskopisch bestimmten Linienbreiten auf halber Peakhöhe eine Kalibrationskurve erstellt. Die Auftragung der Halbhöhenpeakbreiten in Abhängigkeit von der mittleren Molmasse der Natriumhyaluronat-Abbauprodukte ist in Abbildung 114 zusammengefasst; die Auftragung der Breitenwerte in Abhängigkeit von der Abbauzeit ist dem Anhang zu entnehmen (Abb. A-124). Die Kurvenanpassung erfolgte jeweils mit Hilfe eines exponentiellen Fits.

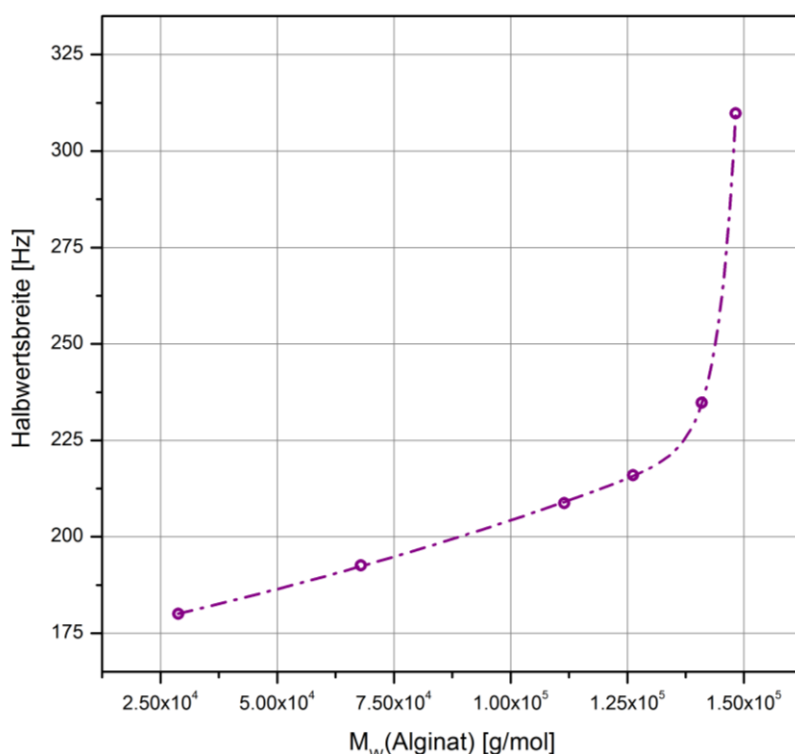


Abbildung 114: Auftragung der Halbhöhenpeakbreiten unterschiedlich degradiert Alginat-Proben in Abhängigkeit von deren mittlerer Molmasse.

Auf Basis dieser Kalibrationskurven konnten die Molmassen der verwendeten Natriumalginat-Chargen jeder Messreihe bestimmt werden; diese liegen für die durchgeführten NMR-Experimente zwischen 110000 und 140000 g/mol (zwecks Vereinfachung der Darstellung wird innerhalb der Auftragungen stellvertretend lediglich die äquivalente Abbauzeitspanne des Polysaccharids angegeben). Trotz erleichterter Probenhandhabung im Falle geringerer Molmassen wurde hier von einem stärkeren Abbau des Alginats abgesehen, da Molekülketten miteinbeziehende Wechselwirkungen in Gegenwart kürzerer Polysaccharidketten eventuell weniger ausgeprägt und aus diesem Grund schwerer auszumachen und interpretierbar wären. So würde auch hier, ebenso wie bei Hyaluronatmolekülen, ein Verknäueln langer Polymerstränge mit einem vergleichsweise prägnanten Abfall der Lösungsviskosität und einem klaren Anstieg der Diffusionsgeschwindigkeit verbunden sein.

Wie im Falle der NMR-Analysen an Dextran (Abschnitt 5.4.1) und Hyaluronat (Abschnitt 5.4.2) werden auch in diesem Kapitel lediglich repräsentative Graphen zum Verhalten des Alginats ausgewählt und wiedergegeben; darüber hinausreichende Graphen und Übersichten sind dem Anhang zu entnehmen (Abb. A-125 bis A-128).

Abbildung 115 zeigt die Echozerfallskurven von 40 mg/mL Natriumhyaluronat-Lösungen jeweils in An- und Abwesenheit unterschiedlicher Mengen Magnesiumsulfat.

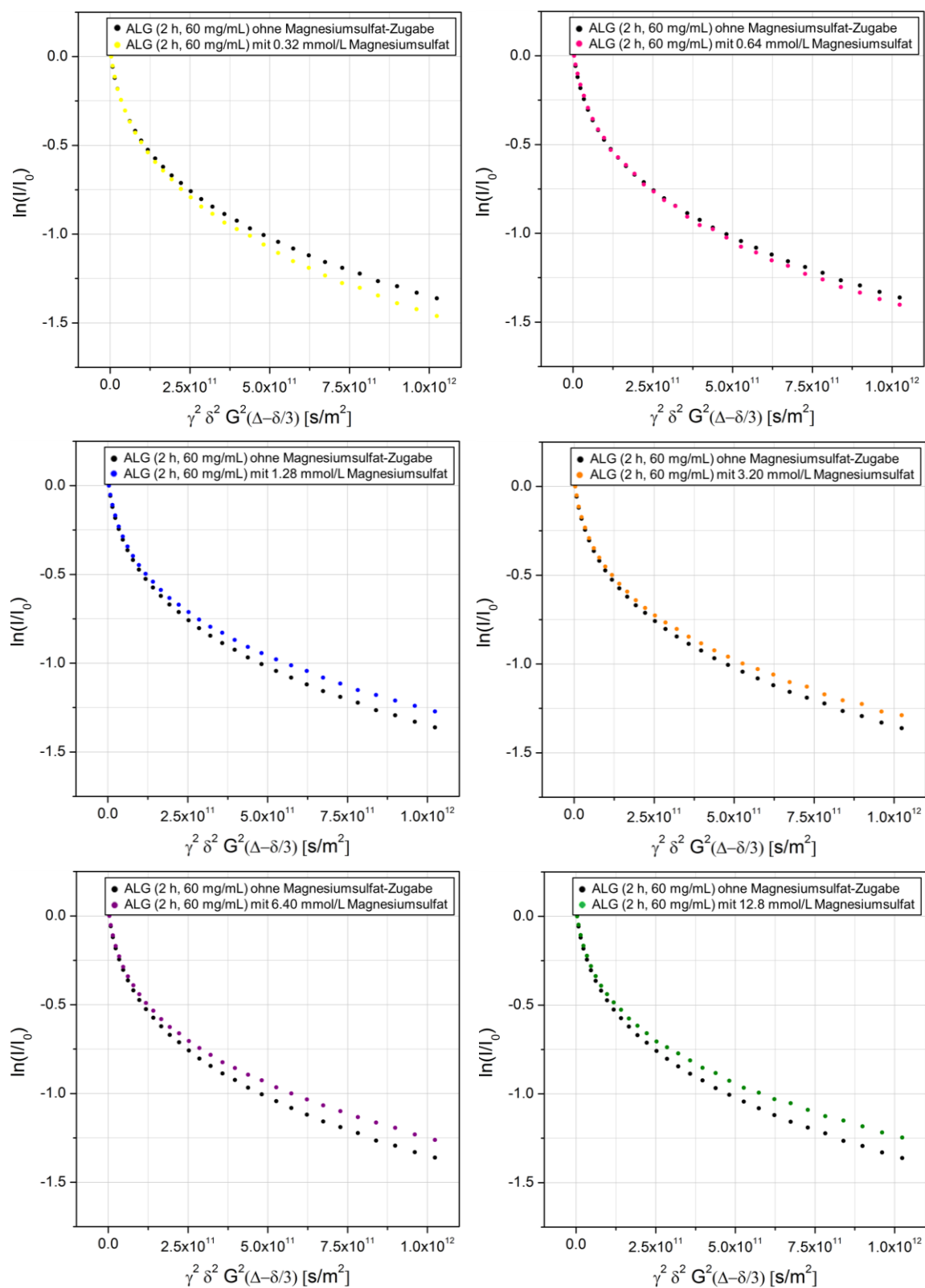


Abbildung 115: Separierte Auftragung der Echozerfallskurven der PFG-NMR-Untersuchungen an Alginat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen MgSO_4 zur Veranschaulichung des Kationeneffekts.

Eine Zusammenfassung der hier dargestellten Echozerfallskurven ist dem nachstehenden Diagramm (Abb. 116) zu entnehmen.

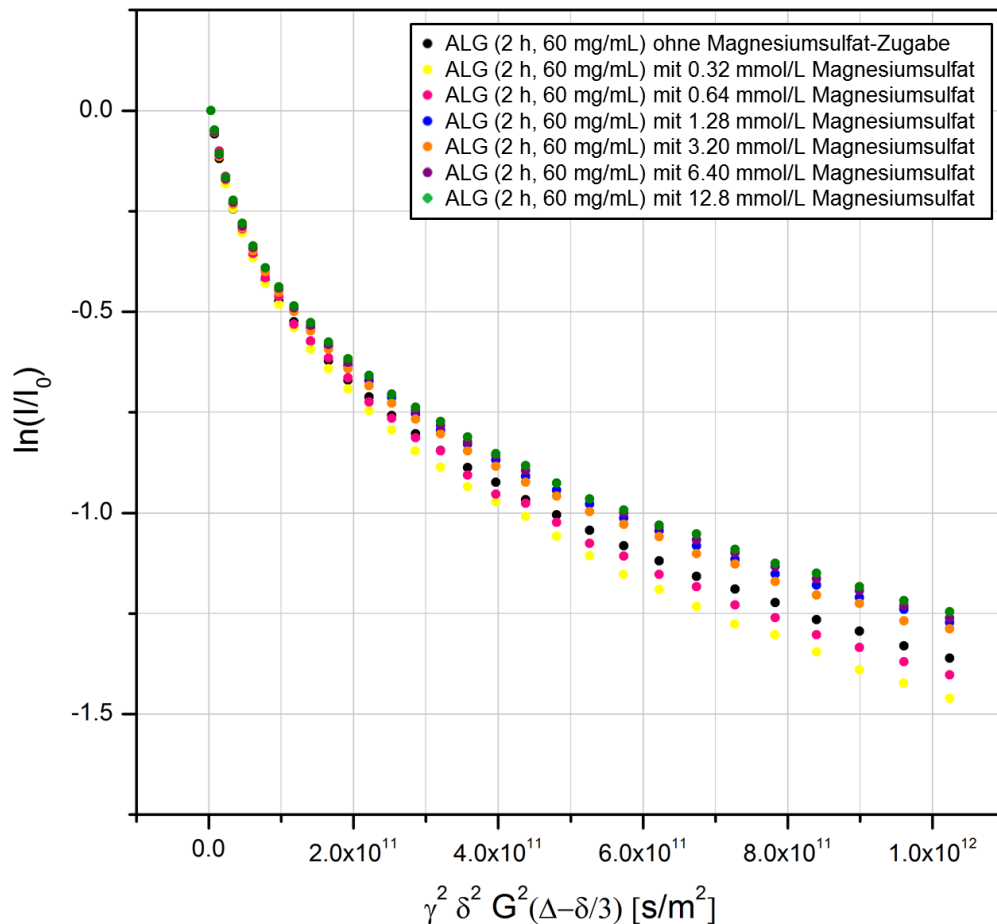


Abbildung 116: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Alginate-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen MgSO_4 .

Betrachtet man die Entwicklung der Kurvenverläufe infolge der Erhöhung der Magnesiumsalz-Konzentration, so wird deutlich, dass zunächst bei einer Zugabemenge von 0.32 mmol/L MgSO_4 (gelb) ein Anstieg der Diffusionsgeschwindigkeit, einhergehend mit einem stärkeren Kurvenabfall, auftritt. Bei darüber hinausreichenden, größeren Salzkonzentrationen beobachtet man wiederum einen Rückgang der Diffusionsgeschwindigkeit, welche hier ab einer MgSO_4 -Konzentration von 1.28 mmol/L (blau) sogar hinter der Ausgangsgeschwindigkeit in Abwesenheit mehrwertiger Kationen (schwarz) zurücksteht. Erläutern lässt sich dieses Verhalten auf Basis der anfänglichen Ausbildung von dem egg-box-Modell entsprechenden Dimeren, entsprechend der Anbindung von Mg^{2+} -Ionen durch Monomereinheiten zweier Alginatmoleküle. Verbunden ist dies mit einer Verringerung des durchschnittlichen hydrodynamischen Volumens eines Polysaccharidstranges auf Grund der räumlichen Nähe und Anordnung der Moleküle zueinander, ein Vorgang, der sich in einem größeren durchschnittlichen Diffusionskoeffizienten widerspiegelt. Durch weitere Magnesiumsulfat-Zugabe kommt es zur Ausbildung größerer Aggregate (vgl. Abb. 17), ein Vorgang welcher sich, ähnlich den Vorgängen beim Hyaluronat, in einer verlangsamten Diffusion der Polyelektrolytketten bzw. ihrer reduzierten Beweglichkeit innerhalb der Lösung äußert.

Zu der obigen NMR-Messreihe analoge NMR-Untersuchungen an stärker abgebautem Alginat unter Zusatz von Zinkacetat liefern die in Abbildung 117 zusammengestellten Ergebnisse.

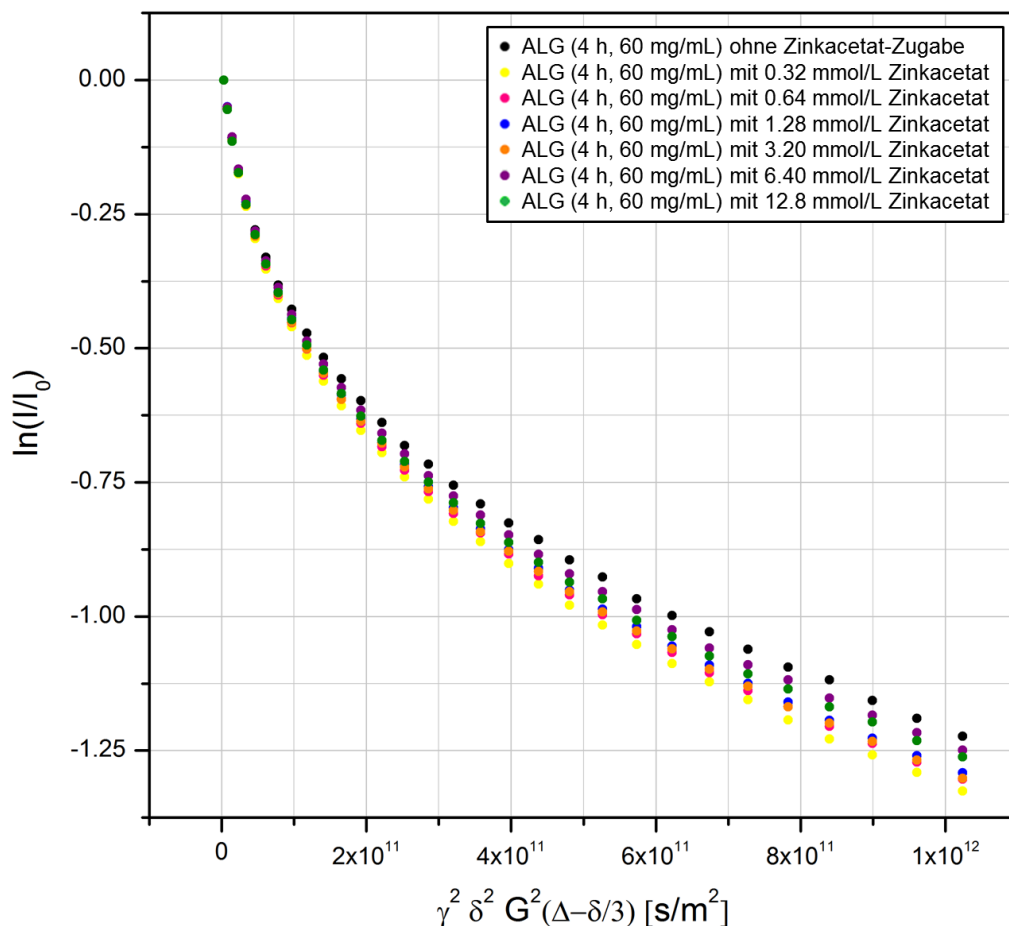


Abbildung 117: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Alginat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen ZnAc_2 .

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen ähnliche Tendenzen, wie die zuvor abgebildeten Kurven. Es ist zu erkennen, dass auch hier zunächst nach Zugabe geringer Mengen Zinkacetat (0.32 mmol/L) ein Anstieg der Diffusionsgeschwindigkeit eintritt, diese weist allerdings bei erhöhten Salzmengen einen rückläufigen Trend auf. Dies ist im Einklang mit der vorherigen Darstellung, im Gegensatz zu dieser ist hier allerdings die Abnahme der Diffusionsgeschwindigkeit durch die Bildung größerer Aggregate nicht so stark ausgeprägt wie zuvor. Dies entspricht nicht den Erwartungen, da im Falle der Zn^{2+} -Ionen, die einen größeren Ionenradius aufweisen, stärkere Wechselwirkungen erwartet werden. Ausschlaggebend für dieses Phänomen scheint die geringere mittlere Molmasse bzw. die reduzierte Kettenlänge des verwendeten Alginats zu sein. So sorgt diese hier dafür, dass die gebildeten Überstrukturen in diesem Fall entsprechend kleiner ausfallen und lediglich eine geringe Viskositätssteigerung eintritt. (Diese Ergebnisse können anhand der durchgeführten rotationsviskosi-

metrischen Titrations überprüft werden, vgl. Abschnitt 5.5.1.) Betrachtet man eine Alginate-Probe gleicher Molmasse in Gegenwart von Bleiacetat, so wird der Einfluss des Kationenradius deutlich (Abb. 118). So musste hier auf Grund der extremen Gelbildung die zugegebene Salzmenge reduziert werden. Analog zu den zuvor illustrierten Messreihen findet auch hier bis zu einer PbAc_2 -Konzentration von 0.32 mmol/L ein Anstieg der Diffusionsgeschwindigkeit statt. Der anschließende Rückgang selbiger auf Grund der Bildung größerer Aggregate in Gegenwart größerer Pb^{2+} -Mengen ist allerdings weitaus deutlicher.

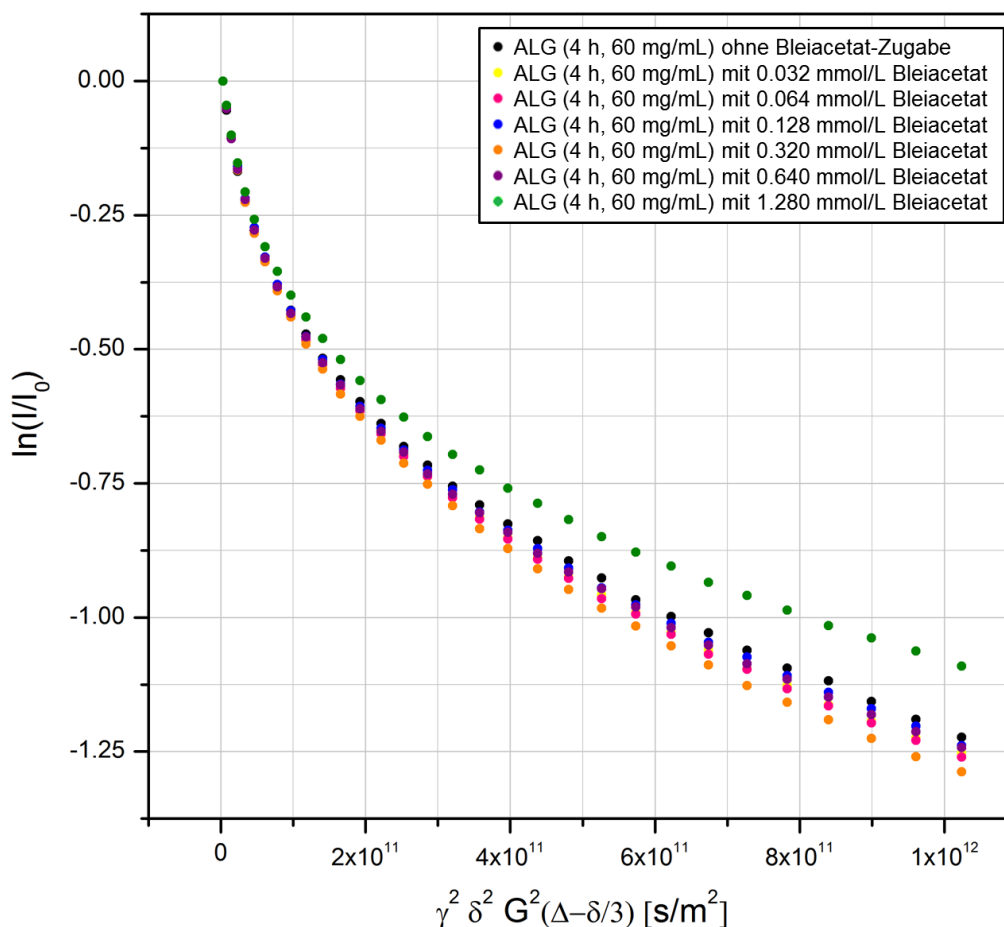


Abbildung 118: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Alginat-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen PbAc_2 .

Auf Basis dieser Ergebnisse, sowie der im Anhang dargestellten Messreihen (Abb. A-125 bis A-128) lässt sich vermuten, dass das Ausmaß der dem egg-box-Modell folgenden Komplexbildung zwischen Alginatmolekülen und bivalenten Kationen der Reihenfolge der Ionenradien entspricht. Um den Aspekt eines potentiellen, aus unterschiedlichen Kationenradien herrührenden Effekts genauer zu analysieren, wurde eine vergleichende Alginat-Messreihe auf Basis gleicher Konzentrationen der gewählten Salze MgSO_4 , NiCl_2 , ZnAc_2 , CdAc_2 sowie CaAc_2 durchgeführt (ein Überblick über die zugehörigen Kationenradien ist in Tabelle 13 gegeben). Hierbei wurde mit einer Salzkonzentration von 1.28 mmol/L gearbeitet, um den

Bereich verlangsamer Diffusion infolge gesteigerter Aggregatbildung in Augenschein zu nehmen. Die auf diese Weise erhaltenen Echozerfallskurven in sind in der nachstehenden Abbildung zusammengestellt.

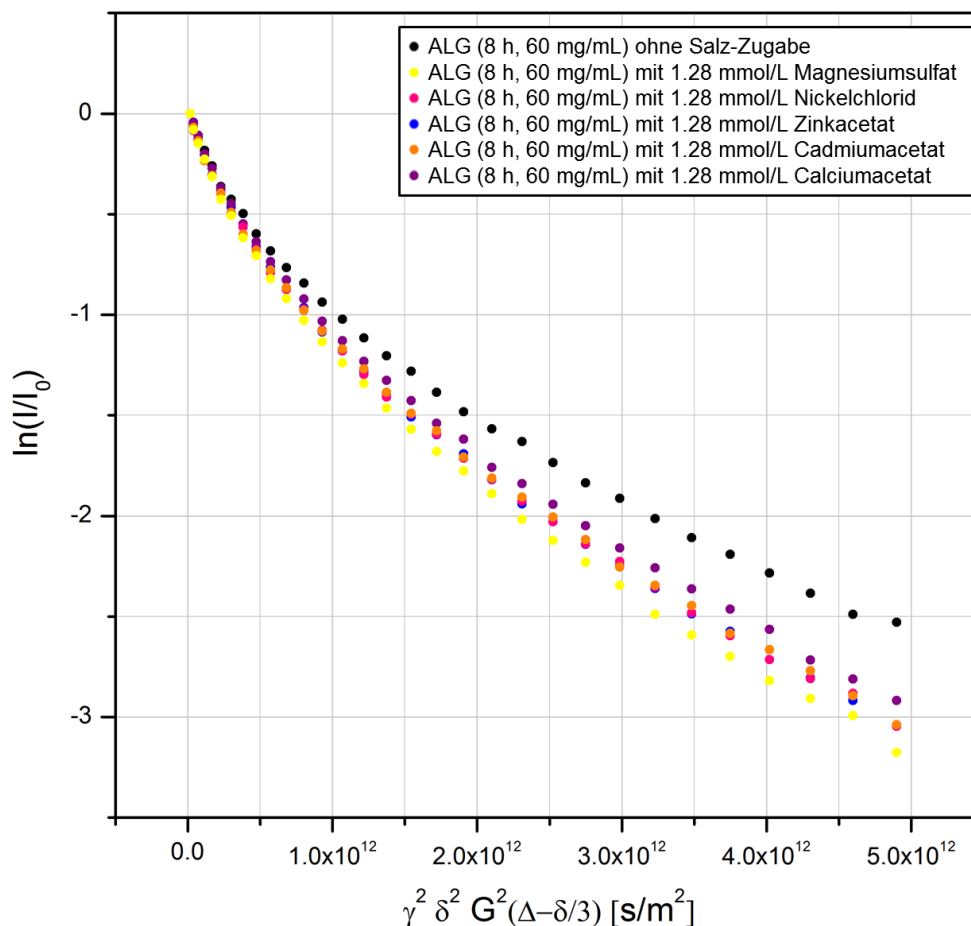


Abbildung 119: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an Alginate-Lösungen in Gegenwart verschiedener Salze.

In der obiger Auftragung ist deutlich die Abhängigkeit der Bildung größerer Komplexsysteme vom Durchmesser der bivalenten Ionen zu erkennen. Die von einer abfallenden Diffusionsgeschwindigkeit begleitete Aggregatbildung ist im Falle des Calciums augenscheinlich ausgeprägter als bei den übrigen Salzen, wobei die Reihenfolge der Ionenradien entspricht ($\text{Ca}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$).

Ein direkter Vergleich mit dem zugehörigen Kurvenverlauf des Graphen unter Zugabe von Chromchlorid, wie sie im Falle des Dextrans in Abschnitt 5.4.1 (vgl. Abb. 94) erfolgte bzw. eine generelle Messreihe mit trivalenten Kationen war an dieser Stelle leider nicht möglich. So führten selbst geringste Zugabemengen an CrCl_3 zu einer sofortigen Gelierung des (hoch konzentrierten) Gesamtsystems, ein Prozess, der die Durchmischung der Probe, ihre Handhabung sowie Analyse ausschloss. Aus analogen Gründen (sowie aus Zwecken der Vermei-

derung von uranhaltigen Abfällen) wurde auf eine Untersuchung von Alginat-Proben in Gegenwart von Uranylacetat mittels gepulster Feldgradienten-NMR verzichtet.

Weiterführende Analysen zum Verhalten von (geringer konzentrierten) Alginat-Lösungen in Gegenwart mehrwertiger Ionen sind dem folgenden Kapitel zu entnehmen.

5.5 Ergebnisse der rotationsviskosimetrischen Titrationsen (RV)

5.5.1 Rotationsviskosimetrische Titrationsen an Alginat

Tabelle 18 enthält eine Auflistung aller durchgeführten rotationsviskosimetrischen Messungen einschließlich der zugehörigen Konzentrationen sowie Volumina.

Tabelle 18: Übersicht der Parameter der rotationsviskosimetrischen Titrationsen.

| Kation | Konzentration der Salzlösung [mol/L] | Alginat-Ausgangskonzentration [mg/mL] (Zugabevolumen [μ L]) | | | | |
|------------------|--------------------------------------|---|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Ni ²⁺ | 0.05 | 0.50 (100) | 0.75 (100) | 1.00 (100) | 1.50 (100) | – (–) |
| Ca ²⁺ | 0.05 | 0.50 (100) | 0.75 (100) | 1.00 (100) | 1.50 (100) | – (–) |
| Pb ²⁺ | 0.05 | 0.05 (50) | 0.10 (50) | 0.30 (50) | 0.50 (50) | 1.00 (50) |
| Ba ²⁺ | 0.05 | 0.05 (50) | 0.10 (50) | 0.30 (50) | 0.50 (50) | 1.00 (50) |
| Cr ³⁺ | 0.0125 | 0.05 (25) | 0.10 (25) | 0.25 (50) | 0.50 (100) | 1.00 (100) |

Die Auswertung der rotationsviskosimetrischen Daten erfolgt in Form von Auftragungen der jeweiligen Salzkonzentration gegen die sog. relative Viskosität η_{rel} . Diese berechnet sich als Quotient der ermittelten Lösungviskositätswerte η und den jeweiligen η_0 -Werten des zum Ansetzen der Lösungen verwendeten bidestillierten Wassers (Gl. 41). Die Verwendung von η_{rel} dient dem Aspekt, auf das Lösungsmittel zurückzuführende Viskositätsschwankungen und damit einhergehende Fehlerquellen zu eliminieren.

$$\eta_{\text{rel}} = \frac{\eta}{\eta_0} \quad (41)$$

Zwecks besserer Vergleichsmöglichkeiten und zur Analyse des Einflusses der Polysaccharidkonzentration auf die auftretenden Änderungen der Viskosität werden die zu einer Salzzart und Alginat-Abbaustufe gehörigen Messreihen in jeweils einem Diagramm zusammengefasst. (Die im Folgenden nicht eingehend diskutierten Messreihen bzw. Zusammenfassungen sind dem Anhang (Abb. A-129 bis A-135) zu entnehmen.)

Abbildung 120 beinhaltet die vergleichende Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlicher Mengen aufgereinigten sprich unabgebauten Algenalginats solvatisiert in bidestilliertem Wasser in Anwesenheit variierender Mengen Nickelchlorid. Den zugehörigen Kurven ist gemein, dass sie sich durch einen anfänglichen Abfall der Viskositätswerte auszeichnen. Dieser Rückgang der intrinsischen Viskosität ist zurückzuführen auf ein mit der Komplexbildung einhergehendes intramolekulares Verknäueln einzelner Alginatketten, das in einem reduzierten hydrodynamischen Radius resultiert. Auch die Ausbildung intermolekularer Komplexe, welche jeweils eine geringe Anzahl an Polymerketten involvieren, ist denkbar. Auffällig ist zudem, dass die Viskositätsabnahme der Kurven umso ausgeprägter ausfällt, je geringer die anfängliche Polyzuckerkonzentration ist. Der Grund hierfür liegt in der „schnelleren“ Absättigung der Polymere und ihrer Bindungsstellen im Falle kleinerer solvatisierter Alginat-Mengen (vgl. Abb. 121).

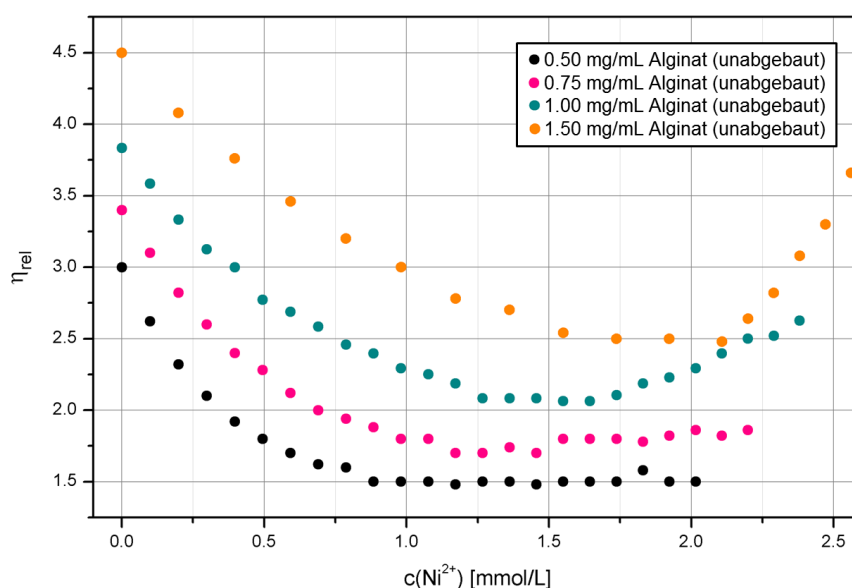


Abbildung 120: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von Nickelchlorid.

Der sich an den abfallenden Bereich der Graphen anschließende Kurvenbereich beinhaltet eine Stagnation des Staudinger-Indexes. Eine mögliche Erklärung dieses Verhaltens ist die

Anbindung der zugefügten zweiwertigen Nickelionen an bereits vorhandene Dimere (vgl. Abb. 121 bzw. 122).

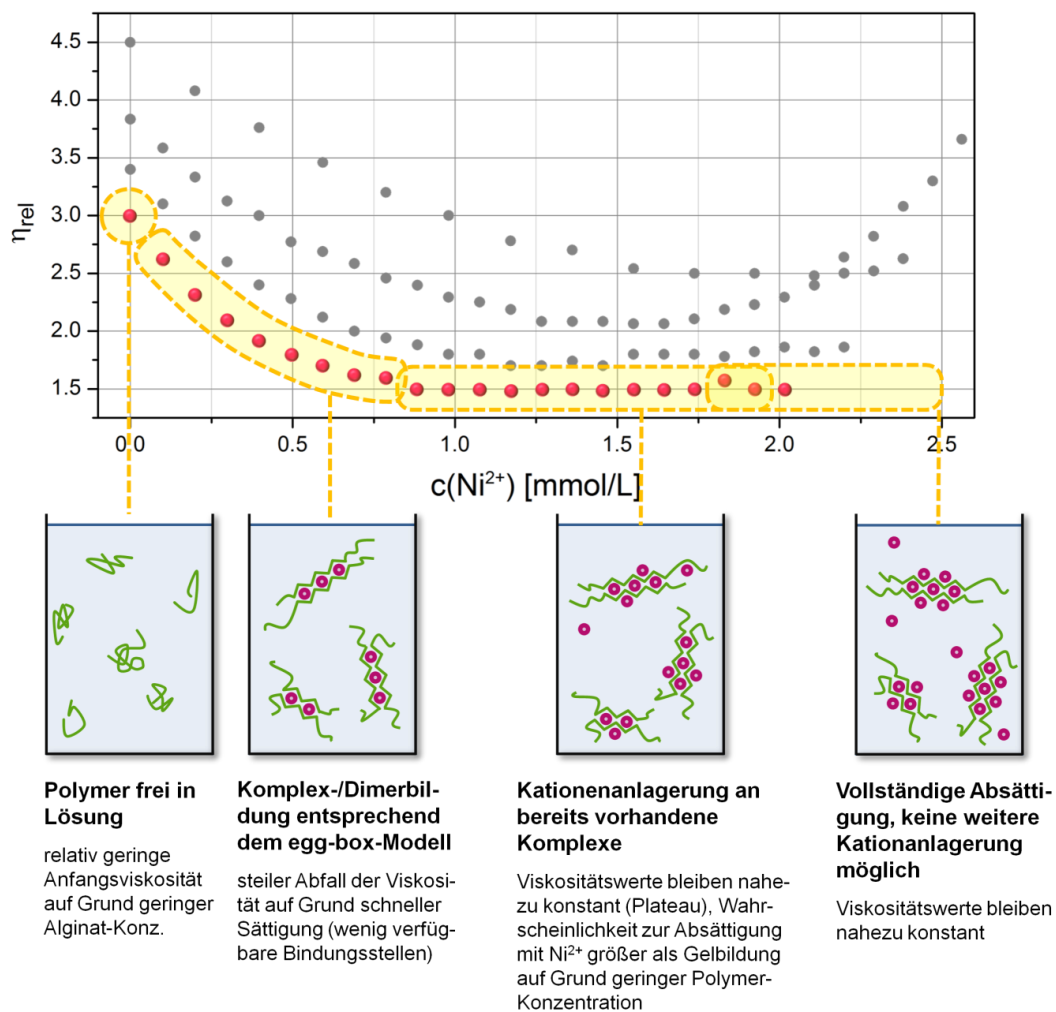


Abbildung 121: Darstellung zur Erläuterung des Kurvenverlaufs resultierend aus der rotationsviskosimetrischen Titration einer 0.5 mg/mL-Alginat-Lösung unter Nickelchlorid-Zugabe.

Betrachtet man nun den zur Alginat-Konzentration von 1.5 mg/mL gehörenden Graphen (Abb. 120, gelb-orange gekennzeichnet), so findet man im Anschluss an den Kurvenbereich mit nahezu konstanten Viskositätswerten einen deutlichen Wiederanstieg selbiger. Dieser Gesichtspunkt lässt auf ein potientes Zusammenballen mehrerer kleinerer (nicht vollständig abgesättigter) Alginataggregate schließen, ein Prozess, welcher zur Ausbildung größerer Komplexe bzw. Netzwerke führt und mit der Gelierung des Systems einhergeht. Letztendlich kommt es zur Entstehung größerer Gelflocken, so dass der Messvorgang beendet werden muss (Abb. 122).

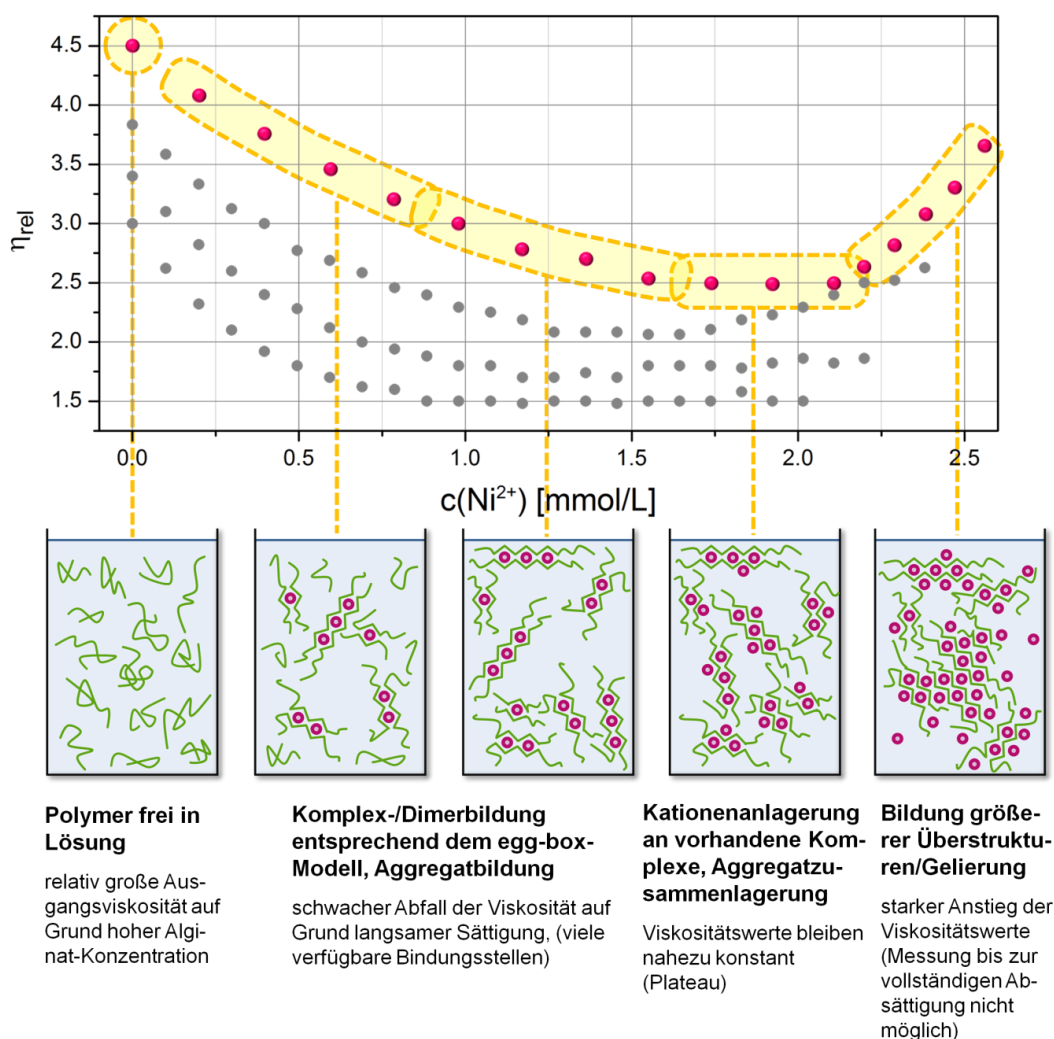


Abbildung 122: Darstellung zur Erläuterung des Kurvenverlaufs resultierend aus der rotationsviskosimetrischen Titration einer 1.5 mg/mL-Alginat-Lösung unter Nickelchlorid-Zugabe.

Die in Abbildung 120 ebenfalls enthaltene Messkurve der relativen Viskositäten einer 1 mg/mL-Alginat-Lösung (türkis) unter Nickelchlorid-Zugabe zeigt einen ähnlichen, allerdings weniger ausgeprägten Anstieg der Werte im Vergleich zur höher konzentrierten Polysaccharidlösung. Die geringere Steigung des Graphen lässt sich auf die reduzierte Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung größerer Aggregate im Falle geringerer Polymermengen im Solvens zurückführen. Senkt man die Alginat-Konzentration weiter, so verringert sich auch die Steigung im Bereich höherer Nickelchlorid-Konzentrationen entsprechend, bis der damit verbundene Kurvenabschnitt schließlich vollständig ausbleibt (hier bei etwa 0.5 mg/mL Alginat in bidestilliertem Wasser, vgl. Abb. 120).

Analoge Messungen an 0.5 h abgebautem Alginat liefern die in Abbildung 123 veranschaulichten Ergebnisse.

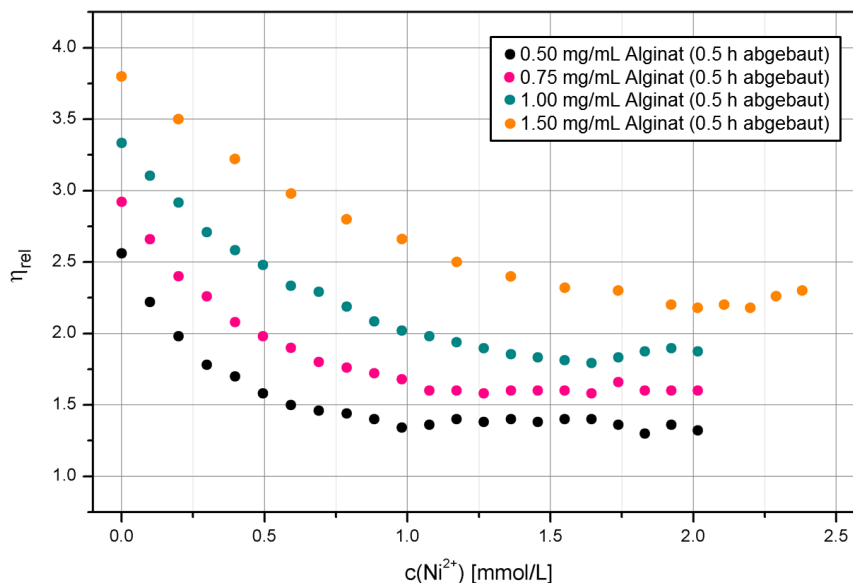


Abbildung 123: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen 0.5 h abgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von Nickelchlorid.

Der Verlauf der obigen Kurven zeigt im Bereich hoher Nickelchlorid-Konzentrationen lediglich einen sehr flachen Wiederanstieg, falls dieses Merkmal überhaupt vorhanden ist. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen könnte eine geringere Vernetzungswahrscheinlichkeit infolge der vergleichsweise kleinen Molmasse respektive der verkürzten Molekülkettenlänge des Biopolymers sein.

Rotationsviskosimetrische Untersuchungen an Alginat in unabgebauter (und abgebauter) Form in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen Bariumchlorid führten zu den in Abb. 124 (bzw. Abb. A-133) dargestellten Ergebnissen.

Die Graphen des aufgereinigten Braunalgen-Alginats (Abb. 124) zeigen für alle verwendeten Polysaccharidkonzentrationen nach anfänglichem Viskositätsabfall infolge geringer Salzzugabe einen Wiederanstieg der Werte des Staudinger-Indexes im Bereich großer BaCl_2 -Konzentrationen. Dieser erneute Anstieg des relativen Viskositätskoeffizienten scheint zudem prägnanter als im Falle des Nickelchlorids. Diese Tendenzen sind im Einklang mit den zuvor anderweitig ermittelten Resultaten. Sie lassen den Schluss zu, dass mit zunehmendem Kationenradius ein Anstieg der Komplexstabilität zu finden ist und größere Überstrukturen gebildet werden, Gesichtspunkte, welche sich wiederum in einer größeren Lösungsviskosität äußern.

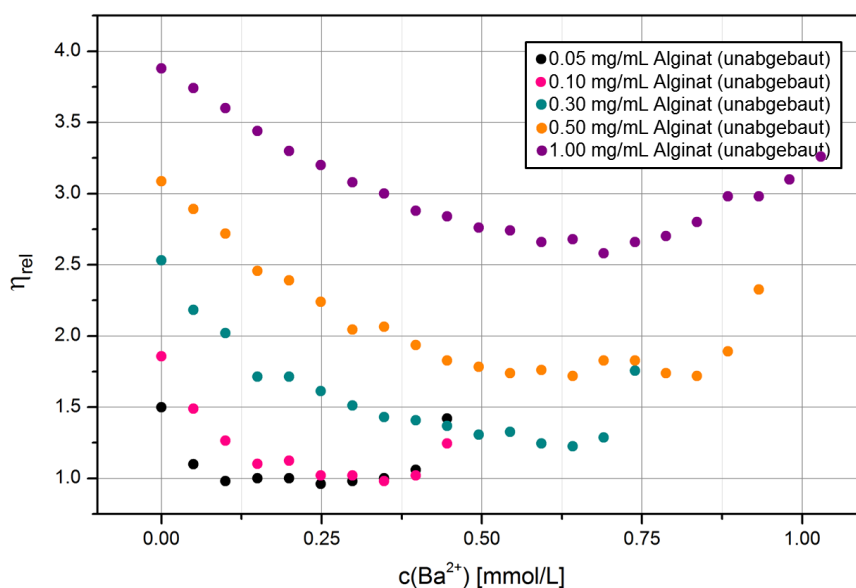


Abbildung 124: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von Bariumchlorid.

Die zugehörigen Messdaten der rotationsviskosimetrischen Titrations unter Verwendung von Chromchlorid-Lösungen sind dem nachstehenden Diagramm (Abb. 125) zu entnehmen.

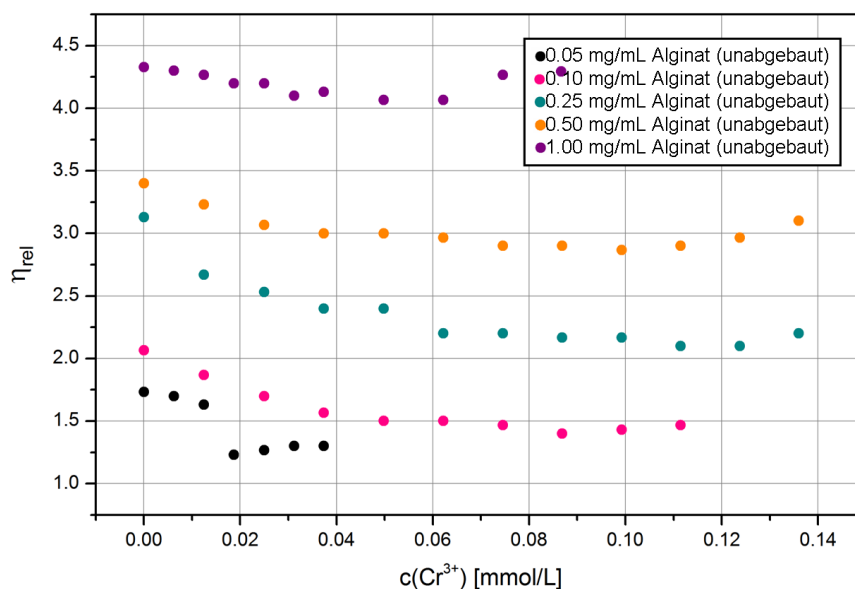


Abbildung 125: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von Chromchlorid.

Im Vergleich zu den vorherigen Messreihen auf der Basis bivalenter Kationen zeigen sich die hier dargestellten Kurven als Ergebnis des Einflusses trivalenter Ionen auf Alginatmoleküle ähnlich in ihrem Verlauf. Ein anfänglicher Abfall der inneren Reibung sowie eine sich hieran

anschließende Zunahme der Probenviskosität in Konsequenz der schrittweisen Erhöhung der Salzkonzentration kennzeichnen diese Graphen ebenso wie die vorherigen. Augenscheinlich ist allerdings auch, dass die notwendigen Salzkonzentrationen zur Ausbildung dieser Kurvenmerkmale wesentlich geringer sind, ein Aspekt, welcher auf die erhöhte Kationenladung zurückgeführt werden kann. Auffällig ist weiterhin, dass zwar auch hier Abfall und Anstieg der relativen Viskositäten der Polyelektrolyt-Lösungen auszumachen sind, die Differenz zwischen der Ausgangsviskosität und dem niedrigsten Viskositätswert einer jeden Messung jedoch deutlich geringer ausfällt als es bei den zweiwertigen Ionen der Fall war. Eine potentielle Erklärung hierfür ist eine vom egg-box-Modell abweichende, eventuell bereits zu Beginn einsetzende Vernetzung mehrerer Makromolekülketten als Resultat der Anbindung der dreiwertigen Cr^{3+} -Ionen. Diese Vernetzung bewirkt, dass die Absenkung der Viskosität weniger ausgeprägt erscheint.

Um die in Gegenwart der trivalenten Chromionen auftretenden Effekte auf die Anordnung der solvatisierten Alginatmoleküle besser abschätzen bzw. mit den Viskositätsänderungen durch Zugabe bivalenter Kationen vergleichen zu können, wurde eine Messreihe unter Verwendung äquivalenter Mengen unabgebauten Polysaccharids (1.0 mg/mL, vgl. Abb. 126 und 127 bzw. 0.5 mg/mL Alginat vgl. Abb. A-134 und A-135) angefertigt. Die im Folgenden dargestellten Messdaten, ihr Verlauf und die Abweichungen der einzelnen Kurven voneinander entsprechen den auf Grund von Ionenradius und -ladung erwarteten Tendenzen.

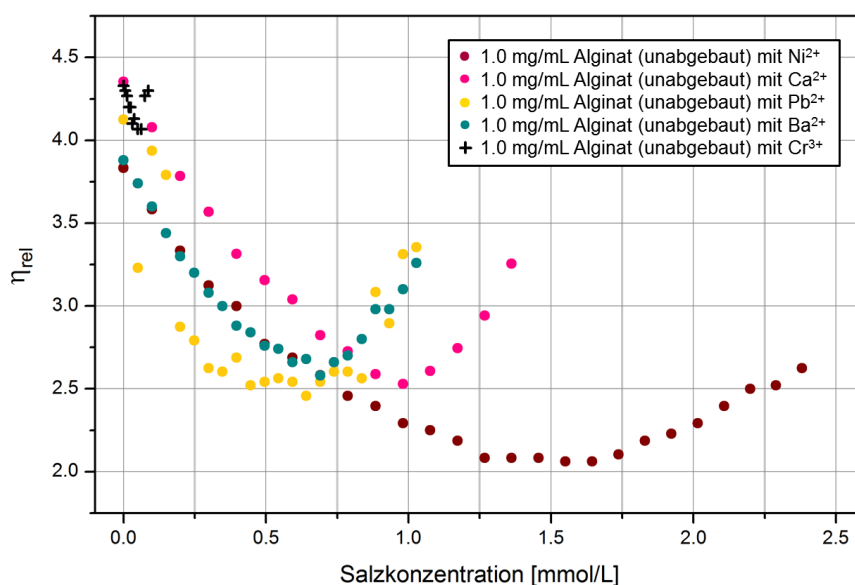


Abbildung 126: Auftragung der relativen Viskositäten von Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats (1.0 mg/mL) in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe der betrachteten Salze.

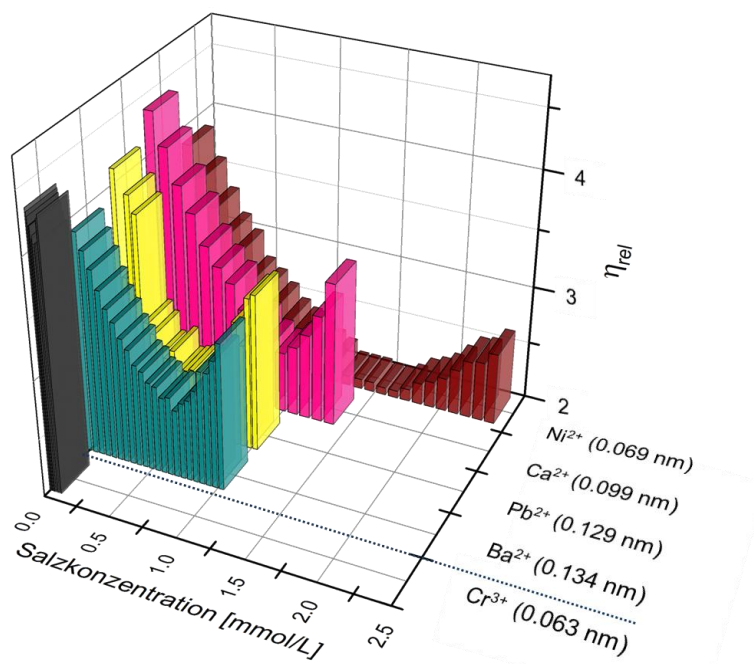


Abbildung 127: Auftragung der relativen Viskositäten von Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats (1.0 mg/mL) in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe der betrachteten Salze in Abhängigkeit von Ionenradius und -ladung.

So zeigt vor allem die Steigung der Kurven im Bereich des Wiederanstiegs der relativen Viskosität das Ausmaß der kationenbedingten Abweichungen in der Komplexbildung. Es ist ersichtlich, dass im Falle der bivalenten Kationen der Wiederanstieg umso steiler ausfällt, je größer der Radius der Teilchen ist. Darüber hinausreichend setzt diese erneute Viskositäts-erhöhung auch mit Zunahme des Kationendurchmessers früher, sprich bereits bei geringeren Salzkonzentrationen, ein. In Relation zu diesen Entwicklungen erscheinen die Änderungen der relativen Viskosität unter Zugabe von CrCl_3 weitaus drastischer. Nach einem kurzen abfallenden Kurvenbereich folgt ein starker Viskositätsanstieg. Hier setzt bereits nach wenigen titrimetrischen Salzzugaben eine Gelbildung ein, welche die Aufnahme weiterer Werte verhindert.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die auf Basis der Rotationsviskosimetrie ermittelten Ergebnisse im Einklang sind mit den in den vorhergehenden Kapiteln dargestellten und diskutierten Tendenzen und Daten der ebenfalls genutzten Messmethoden.

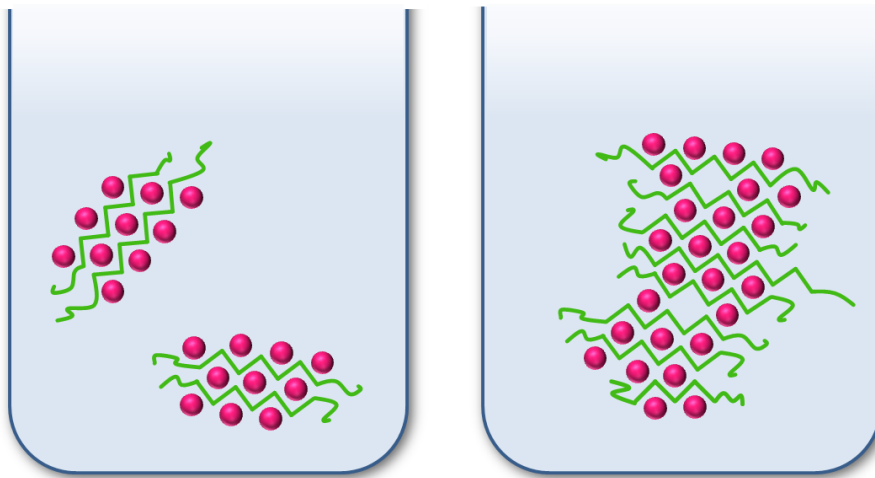
6 Zusammenfassung und Ausblick

Den zentralen Aspekt dieser Arbeit stellen die Komplexbildungsprozesse zwischen anionischen Polysacchariden und bi- bzw. trivalenten (Metall-)Kationen dar. Der Hintergrund des Interesses an den auftretenden Wechselwirkungen und der Anbindung positiv geladener Ionen durch polyanionische Makromoleküle liegt in der daraus resultierenden Option zur Entfernung schädlicher oder störender Substanzen, besonders Schwermetallen. So kann ein umfassendes Wissen über die Anbindungsvorgänge und -effekte ein Beitrag zur flexiblen, biologischen Aufreinigung von Gewässern weltweit sein. Um ein möglichst weitreichendes Bild über die mit der Komplexbildung einhergehenden strukturellen Veränderungen im Hinblick auf die Polysaccharidketten zu erhalten, werden zahlreiche Analysemethoden in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen hinzugezogen.

So zeigen die rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen an Alginat- und Hyaluronatketten aus gering konzentrierten wässrigen Lösungen (0.1 mg/mL) ein Verknäueln respektive Vernetzen der geladenen Biomakromoleküle in Folge der Gegenwart mehrwertiger Kationen. In Abwesenheit multivalenter Gegenionen hingegen findet man ein regelmäßiges, symmetrisches, teils mäanderförmiges Erscheinungsbild der Polyelektrolyte. Diese wellenähnliche Geometrie lässt sich auf Abstoßungen der geladenen Moleküleinheiten untereinander zurückführen. Vereinzelt können auch gestreckte Kettensegmente beobachtet werden, ein Aspekt, welcher das Auftreten von sogenannten „molecular combing“-Prozessen vermuten lässt. Eine solche trocknungsbedingt ausgedehnte Erscheinungsform kann ebenso im Falle des ungeladenen Mehrfachzuckers Dextran detektiert werden. Auf Aggregatbildungen beruhende Veränderungen im charakteristischen Erscheinungsbildes der Dextranmoleküle infolge von Verknäuelungen respektive Vernetzungen bleiben bei diesem ungeladenen Polysaccharid jedoch, wie zu erwarten, aus.

Auf das Bindungsverhalten hinweisende Aspekte sind ebenso in Lösung nachweisbar. Die Betrachtungen gering konzentrierter Alginat-Lösungen (0.125 bis 3.0 mg/mL) auf Basis konduktometrischer Titrations weisen auf den Zusammenhang zwischen der Komplexstabilität und dem Radius der Kationen bzw. ihrer Ladung hin. Die Analysen ergeben, dass bei zweifach positiv geladenen Teilchen ein größerer Kationenradius eine erhöhte Komplexstabilität zur Folge hat, wobei eine nahezu lineare Abhängigkeit gefunden wird ($\text{Ba}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$). Der Vergleich mit den ebenfalls durchgeführten Titrations unter Verwendung von Cr^{3+} -Ionen demonstriert des Weiteren, dass trivalente in Relation zu bivalenten Ionen (gleichen bzw. sogar größeren Durchmessers) eine gesteigerte Beständigkeit der Überstrukturen hervorrufen, sprich stabilere Komplexe bilden. Die zudem aus den titrimetrischen Daten ermittelten Kation-Monomer-Verhältnisse lassen weitere

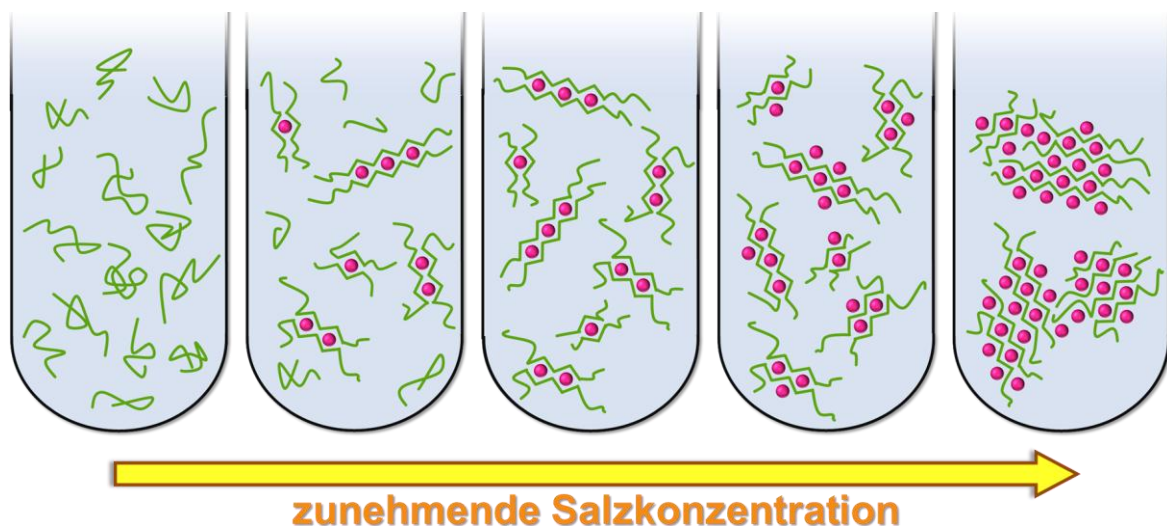
Schlüsse auf die Kationbindung durch das algeale Polysaccharid zu. So kann darüber hinaus, bei separater Betrachtung der Messreihen der einzelnen Salze, gezeigt werden, dass für Polymerausgangskonzentrationen unterhalb von etwa 1.0 mg/mL die Anzahl der pro Kation gebundenen Monomereinheiten nahezu konstant ist. Dies kann als Anzeichen für das Auftreten einer reinen Dimer- bzw. „half-egg-box“-Bildung im Falle geringer Alginat-Konzentrationen gedeutet werden. Im darüber hinausreichenden Konzentrationsbereich (hier 1.0 bis 3.0 mg/mL) erhöht sich mit zunehmendem Zuckergehalt in der Lösung die Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung größerer, intermolekularer Überstrukturen, so dass proportional weniger Gegenionen zur Sättigung der anionischen Ketten nötig sind.



Es kann zudem nachgewiesen werden, dass in Gegenwart äquivalenter Konzentrationen bi- oder trivalenter Kationen ähnlicher Radien die Kation-Monomer-Verhältnisse nur geringfügige Abweichungen aufzeigen. Trotz der erhöhten Ladungsmenge, der vergleichsweise hohen Komplexstabilität sowie der vermehrten Gelierung des Gesamtsystems nach Zugabe dreifach positiv geladener Kationen sind diese nicht dazu befähigt, eine weitaus größere Anzahl an Monomereinheiten an sich zu binden. Eine mögliche Erklärung dieser Ergebnisse könnte darin liegen, dass der Ionenradius der eingesetzten Chromionen mit einem Wert von 0.063 nm bereits zu gering ist, als dass die Metallionen effektiv durch die geladenen Kettensegmente des Alginats komplexiert würden. So ist es vorstellbar, dass eine Anbindung einer größeren Anzahl an Monomereinheiten eines Alginatmoleküls an lediglich ein Cr^{3+} -Ion, gleichbedeutend mit einem intramolekularen Komplexierungsvorgang, dadurch limitiert ist, dass sie eine vom natürlichen Bindungswinkel abweichende Krümmung der Polymerkette erfordern bzw. eine Abstoßung der Kettensegmente untereinander verursachen würde.

Die Resultate der ebenfalls auf verdünnten Polysaccharidlösungen basierenden rheometrischen Untersuchungen an Algenalginat stehen im Einklang mit den oben genannten Aspekten. So kann mit Hilfe rotationsviskosimetrischen Titrations belegt werden, dass das Aus-

maß der Ausbildung inter- bzw. intramolekularer Komplexe eine Abhängigkeit von der Polymerkonzentration sowie vom Radius der zugesetzten Gegenionen aufzeigt. Erste Salzzugaben führen hierbei stets zu einer Absenkung der Lösungsviskosität, gleichbedeutend mit einer anfänglichen intramolekularen Verknäuelung bzw. der Bildung von (relativ dicht gepackten) Alginate-dimeren/-aggregaten. Diese Viskositätsabnahme wird mit jeder weiteren Zugabe geringer bis schließlich ein Plateau erreicht ist, interpretierbar als das Anlagern weiterer Kationen an bereits bestehende Komplexe mit lediglich geringem Einfluss auf die Gesamtstruktur. Weitere Erhöhungen der Salzmengen führen ausschließlich bei größeren Ausgangspolysaccharidkonzentrationen zu einem Wiederanstieg der Viskosität, erklärbar durch ein Vernetzen mehrerer Alginatestrukturen entsprechend dem egg-box-Modell und in Übereinstimmung mit den zuvor genannten Ergebnissen bezüglich der Konzentrationsabhängigkeit der Alginategelbildung.



Die Reihenfolge der Kationen im Hinblick auf ausgeprägtere Komplexbildungsprozesse entspricht dabei der mittels Konduktometrie bestimmten. Im Zuge der rotationsviskosimetrischen Analysen kann darüber hinaus durch den Einsatz verschiedener Ausgangsmaterialien in Form degradierter Alginateproben divergenter mittlerer Molmassen gezeigt werden, dass die Größe der sich bildenden Überstrukturen bzw. der resultierende Vernetzungsgrad ebenso durch die Polyelektrolytkettenlänge bestimmt wird. So kann beobachtet werden, dass bei analogen Salzzugabemengen im Falle kürzerer Moleküle ein Wiederanstieg der Viskositätswerte erst bei deutlich höheren Kationkonzentrationen einsetzt oder sogar vollständig ausbleibt. Diese Tatsache spricht für einen geringeren Anteil an größeren Aggregaten in Lösung bzw. Vernetzungserscheinungen im geringeren Umfang als zuvor.

Bestätigt und erweitert werden diese Ergebnisse durch kernresonanzspektroskopische Untersuchungen auf der Basis gepulster Feldgradienten. Auf Grund der hierzu notwendigen erhöhten Probenkonzentrationen mit Polysaccharidgehalten von bis zu 60 mg/mL kann für

das verwendete Hyaluronsäurederivat gezeigt werden, dass auch hier Verknüpfungen über intermolekulare Wechselwirkungen auftreten. Geringe Salzdosen äußern sich im Falle der untersuchten Polyelektrolyte in einer gesteigerten Diffusionsgeschwindigkeit selbiger. Über bestimmte Grenzwerte hinausreichende Mengen mehrwertiger Kationen führen hingegen zu einem Rückgang dieser Geschwindigkeit, sprich einer eingeschränkten Diffusionsmöglichkeit der Makromoleküle. Das Ausmaß dieses Effektes erweist sich als ionenradiusabhängig entsprechend der bereits genannten Reihenfolge der bivalenten Kationen und zeigt sich im Falle des Chromchlorid-Zusatzes als darüber hinausreichend ausgeprägt. Analoge Untersuchungen an Dextran-Proben ähnlich hoher Konzentration bestätigen die zu erwartende Konstanz des Diffusionskoeffizienten der Zuckermoleküle in Lösung trotz erfolgter Zugabe bi- und trivalenter Kationen. Mit Hilfe von PFG-NMR-Messungen an Hyaluronat und Dextran unter Einsatz von Uranylacetat und einer Betrachtung der molmassenabhängigen Peakbreiten kann zudem gezeigt werden, dass im Falle des geladenen Mehrfachzuckers ein Kettenabbau in Folge der Uransalz-Zugabe stattfindet, ein Vorgang, welcher im Falle des ungeladenen Dextrans ausbleibt. Auf Grund weiterführender Untersuchungsschritte unter Variation der Probenbehandlung und -aufbewahrung (Licht- und Luftausschluss) wird vermutet, dass die zugehörige Degradationsreaktion an Hyaluronat dem sog. ORD-Mechanismus (oxidative-reductive depolymerisation) folgt, eine Reaktion, deren Ablauf die Gegenwart von Sauerstoff erfordert.

Die Betrachtung der gewonnenen Einblicke im Zusammenhang mit dem Ziel eines besseren Verständnisses mikrobieller Systeme und dem ihnen innewohnenden Potential in der Wasseraufbereitung führt zu dem Wunsch eines weiterreichenden Wissens. So könnte eine Aufgabe zukünftiger Arbeiten eine eingehendere Untersuchung vollständiger Biofilme und mikrobieller Aggregate im Hinblick auf ihre Kationenanbindungsfähigkeit (oder auch andere potentielle Anwendungen) sein. Einen Beweggrund zu solchen weiterführenden Untersuchungen bildet der Aspekt, dass mikrobielle Systeme bzw. ihre EPS neben Polysacchariden unterschiedlicher Natur noch weitere Biopolymere beinhalten. Hierzu zählen Kohlenhydrate wie Proteine, Lipide, Nukleinsäuren und andere Komponenten, welche allesamt einen Einfluss auf die Vorgänge im mikrobiellen Aggregat, denen auch die Metallkomplexierung zuzuordnen ist, ausüben können. Solche umfassenden Modellversuche sollten dabei sowohl im Bezug zur Verbesserung bereits bestehender Aufreinigungsprozesse in der Wasseraufarbeitung, als auch zur Entwicklung neuer Methoden auf diesem Gebiet stehen.

7 Literaturverzeichnis

- [1] J. Mutschmann, F. Stimmelmayer, *Taschenbuch der Wasserversorgung*, 14. Auflage, Vieweg&Sohn Verlag, Wiesbaden, **2007**.
- [2] http://aiguesdebenissa.com/index.php?option=com_content&view=article&id=6&Itemid=2&lang=de (Stand: 01.07.2012).
- [3] H. Jäger, *Flug u Reisemed.* **2008**, 15(4), 166-167.
- [4] A. Zellermann, *24th International Symposium on Polymer Analysis and Characterization (ISPAC 2011) - Book of Abstracts*, Turin, **2011**.
- [5] S. Ruyters, J. Mertens, E. Vassilieva, B. Dehandschutter, A. Poffijn, E. Smolders, *Environ. Sci. Technol.* **2011**, 45, 1616–1622.
- [6] K. Naicker, E. Cukrowska, T. S. McCarthy, *Environ. Pollut.* **2003**, 122, 29-40.
- [7] S. Schroetter, M. Rivas, M. Lamas, E. Schnug, J. Fleckenstein, *Landbauforsch. Völk.* **2005**, Special Issue 286, 95-105.
- [8] E. R. Gazdag, E. Sipter, *Carpath. J. Earth. Env.* **2008**, 3(2), 83-92.
- [9] R. Metz, H. Böken, C. Hoffmann, *Schwermetalle in der Nahrungskette, im Pfad Boden-Pflanze-Tier-Mensch*, in: *Tagungsband zur 20. Arbeitstagung „Mengen- und Spurenanalytik“*, Friedrich-Schiller-Universität Jena, **2000**.
- [10] D. Uhlmann, *Int. Revue ges. Hydrobiol.* **1993**, 78(1), 168.
- [11] G. Furth, R. Knierim, V. Buss, C. Mayer, *Int. J. Biol. Macromol.* **2008**, 42(1), 33-40.
- [12] D. Bergmann, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2010**.
- [13] G. Furth, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2006**.
- [14] H.-C. Flemming, J. Wingender, *Water Sci. Technol.* **2001**, 43(6), 1-8.
- [15] M. Vogt, *Dissertation*, Gerhard-Mercator-Universität Duisburg, **2001**.
- [16] H.-C. Flemming, J. Wingender, *Biol. unserer Zeit* **2001**, 31(3), 169-180.
- [17] G.-P. Sheng, H.-Q. Yu, X.-Y. Li, *Biotechnol. Adv.* **2010**, 28(6), 882-894.
- [18] S. Heise, G. Gust, *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **1999**, 190, 141-153.
- [19] J. W. Costerton, Z. Lewandowski, D. DeBeer, D. Caldwell, D. Korber, G. James, *J. Bacteriol.* **1994**, 176(8), 2137-2142.
- [20] I. W. Sutherland, *Biotech. Adv.* **1994**, 12, 393-448.
- [21] I. W. Sutherland, *Biotechnol. Gen. Eng. Res.* **1999**, 16, 217-229.
- [22] S. Comte, G. Guiband, M. Baudu, *Process Biochem.* **2006**, 41(4), 815-823.
- [23] P. H. Nielsen, A. Jahn, *Extraction of EPS*, in: *Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function*, J. Wingender, T. R. Neu, H.-C. Flemming (Hrsg.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1999**.
- [24] H.-C. Flemming, J. Wingender, *Water Sci. Technol.* **2001**, 43(6), 9-16.

-
- [25] C. Mayer, R. Moritz, C. Kirschner, W. Borchard, R. Maibaum, J. Wingender, H.-C. Flemming, *Int. J. Biol. Macromol.* **1999**, 26, 3-16.
- [26] H.-C. Flemming, A. Leis, *Sorption properties of biofilms*, in: *Encyclopedia of environmental microbiology* 5, H.-C. Flemming, G. Bitton (Hrsg.), **2002**.
- [27] R. K. Kent, M. M. Fitz, K. G. Cline, S. Evans, L. K. Kentala, *News of engineering forensics* **2005**, 21(2), 1-2.
- [28] H. H. P. Fang, L. C. Xu, K. Y. Chan, *Water Res.* **2002**, 36, 4709-4716.
- [29] S. F. Aquino, D. C. Stuckey, *Water Res.* **2004**, 38, 255-266.
- [30] J. H. Priester, S. G. Olsen, S. M. Webb, M. P. Neu, L. E. Hersman, P. A. Holden, *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, 72(3), 1988-1996.
- [31] G. P. Sheng, H. Q. Yu, Z. B. Yue, *Appl. Microbiol. Technol.* **2005**, 69(2), 216-222.
- [32] W. Sand, E. Bock, *Mater. Corros.* **1990**, 41, 64-68.
- [33] M. van Beek, L. Jones, H. Sheardown, *Biomaterials* **2008**, 29(7), 780-789.
- [34] M. Ali, M. E. Byrne, *Pharm. Res.* **2009**, 26(3), 714-726.
- [35] G. Habermehl, P. E. Hammann, H. C. Krebs, W. Ternes, *Naturstoffchemie - Eine Einführung*, 3. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **2008**.
- [36] G. O. Aspinall, *Polysaccharides*, Pergamon Press, 1. Auflage, Oxford, New York, **1970**.
- [37] G. Franz, *Struktur und biologische Funktion von Polysacchariden*, in: *Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung - Eine Einführung*, W. Burchard (Hrsg.), 1. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1985**.
- [38] J. Lehmann, *Kohlenhydrate - Chemie und Biologie*, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1996**.
- [39] P. Y. Bruice, *Organische Chemie: Studieren kompakt*, 5. Auflage, Pearson Deutschland GmbH, **2011**.
- [40] A. C. O'Sullivan, *Cellulose* **1997**, 4, 173-207.
- [41] D. H. Isaac, *Bacterial polysaccharides*, in: *Polysaccharides - Topics in structure and morphology*, E. D. T. Atkins (Hrsg.), Macmillan, London, **1985**.
- [42] E. D. T. Atkins, *Polysaccharides - Topics in structure and morphology*, E. D. T. Atkins (Hrsg.), Macmillan, London, **1985**.
- [43] B. Casu, *Nuclear magnetic resonance studies of polysaccharide structure and interactions*, in: *Polysaccharides - Topics in structure and morphology*, E. D. T. Atkins (Hrsg.), Macmillan, London, **1985**.
- [44] K. Jann, *Bakterienpolysaccharide*, in: *Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung - Eine Einführung*, W. Burchard (Hrsg.), 1. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1985**.
- [45] A. Imberty, A. Buléon, V. Tran, S. Péerez, *Starch/Stärke* **1991**, 43(10), 75-384.
-

- [46] H. Scherz, *Verwendung der Polysaccharide in der Lebensmittelverarbeitung*, in: *Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung - Eine Einführung*, W. Burchard (Hrsg.), 1. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1985**.
- [47] E. van der Linden, D. J. McClements, J. Ubbink, *Food Biophysics* **2008**, 3, 246-254.
- [48] <http://www.atablefortwo.com.au/wp-content/uploads/2010/10/chefs-armoury-molecular-2.jpg> (Stand: 16.09.2011).
- [49] <http://chickenfriedgourmet.typepad.com/photos/uncategorized/2007/04/10/caviar.jpg> (Stand: 16.09.2011).
- [50] <http://cocktailpearls.files.wordpress.com/2010/10/maki-roll-con-cocktail-pearls-de-manzjengibre.jpg?w=206&h=300> (Stand: 16.09.2011).
- [51] I. W. Sutherland, *Trends Biotechnol.* **1998**, 16, 41-46.
- [52] G. Franz, *Polysaccharide in der Pharmazie*, in: *Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung - Eine Einführung*, W. Burchard (Hrsg.), 1. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1985**.
- [53] N. Jallali, *Microsurgery* **2003**, 23(1), 78-80.
- [54] A. Jeanes, C. A. Wilham, J. C. Miers, *J. Biol. Chem.* **1948**, 176, 603-615.
- [55] K. I. Shingel, *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 1445-1451.
- [56] M. T. Madigan, J. M. Martinoko, J. Parker, *Brock biology of microorganisms*, 9th ed., Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, **2000**.
- [57] G. Kaletunç, J. Lee, H. Alpas, F. Bozoglu, *Appl. Environ. Microbiol.* **2004**, 70(2), 1116-1122.
- [58] A. Misaki, M. Torii, T. Sawai, I. J. Goldstein, *Carbohydr. Res.* **1980**, 84, 273-285.
- [59] J. W. L. Davies, C. R. Ricketts, B. N. Williams, *Brit. J. Pharmacol.* **1963**, 21, 220-225.
- [60] W. T. Winter, S. Arnott, *J. Mol. Biol.* **1977**, 117, 761-784.
- [61] J. M. Guss, D. W. L. Hukins, P. J. C. Smith, W. T. Winter, S. Arnott, *J. Mol. Biol.* **1975**, 95, 359-384.
- [62] J. K. Sheehan, K. H. Gardner, E. D. T. Atkins, *J. Mol. Biol.* **1977**, 117, 113-135.
- [63] J. A. Vázquez, M. I. Montemayor, J. Fraguas, M. A. Murado, *Microbial Cell Factories* **2010**, 9:46.
- [64] I. A. Nieduzynski, *Connective tissue polysaccharides*, in: *Polysaccharides - Topics in structure and morphology*, E. D. T. Atkins (Hrsg.), Macmillan, London, **1985**.
- [65] S. J. Kim, S. Y. Park, C. W. Kin, *J. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, 16, 1849-1855.
- [66] S. Arnott, A. K. Mitra, S. Raghunathan, *J. Mol. Biol.* **1983**, 169, 861-872.
- [67] H. Beyer, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, 16. Auflage, S. Hirzel Verlag, Leipzig, **1968**.
- [68] B. Fong Chong, L. M. Blank, R. McLaughlin, L. K. Nielsen, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, 66, 341-351.

-
- [69] K. Meyer, J. W. Palmer, *J. Biol. Chem.* **1934**, 107, 629-634.
- [70] http://3.bp.blogspot.com/_ph4yWNotLvw/SkC3kpruaZI/AAAAAAAAABY/7B2uXROdMa4/s1600-h/eye.gif (Stand: 30.11.2011).
- [71] E. P. Goldberg, A. Yahiaoui, K. Mentak, T. R. Erickson, J. Seeger, *Patent No. US 6,387,379 B1*, **2002**.
- [72] R. C. Pruett, C. L. Schepens, D. A. Swann, *Arch Ophthalmol* **1979**, 97(12), 2325-2330.
- [73] K. Y. Yuen, W. H. Seto, C. H. Choi, W. Ng, S. W. Ho, P. Y. Chau, *J. Infect.* **1990**, 21, 241-250.
- [74] H.-U. ter Meer, *Thermoreversible Gelierung: Carrageenan, Agarose, Alginate, Pektin*, in: *Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung - Eine Einführung*, W. Burchard (Hrsg.), 1. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1985**.
- [75] A. Marburger, *Dissertation*, Philipps-Universität Marburg, **2003**.
- [76] W. Mackie, *Plant cell walls: morphology, biosynthesis and growth*, in: *Polysaccharides - Topics in structure and morphology*, E. D. T. Atkins (Hrsg.), Macmillan, London, **1985**.
- [77] O. Smidsrød, G. Skjåk-Bræk, *Trends Biotechnol.* **1990**, 8, 71-78.
- [78] E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, *Carbohydr. Res.* **1978**, 66, 145-154.
- [79] C. Santi, D. Coppetta, S. Santoro, G. Basta, P. Montanucci, L. Racanicchi, R. Calafiore, *NMR Analysis of Non Hydrolyzed Samples of Sodium Alginate*, in: *12th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-12)*, J. A. Seijas, M. P. V. Tato (Hrsg.), MDPI, Basel, **2008**.
- [80] http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/40_sicherheit/images/Pseud_aeruginosa.jpg (Stand: 30.11.2011).
- [81] <http://www.spiegel.de/wissenschaft/technik/0,1518,785127,00.html> (Stand: 05.12.2011).
- [82] <http://www.zusatzstoffe-online.de/zusatzstoffe/> (Stand: 03.08.2012).
- [83] W. Paul, P. Sharma, *Trends Biomater. Artif. Organs* **2004**, 18(1), 18-23.
- [84] H. Grasdalen, *Carbohydr. Res.* **1983**, 118, 255-260.
- [85] S. Kratz, E. Schnug, *Landbauforsch. Völk.* **2005**, Special Issue 286, 37-45.
- [86] A. Vashegyi, G. Mezősi, K. Barta, A. Farsang, G. Dormány, B. Bartha, S. Pataki, L. Erdei, *Acta Biol. Szeged.* **2005**, 49(1-2), 77-79.
- [87] M. H. Rafsanjani, S. Kratz, J. Fleckenstein, E. Schnug, *Landbauforsch. vTI Ag.* **2008**, 58(3), 231-234.
- [88] J. H. Duffus, *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 793-807.
-

- [89] H. Klein, P. Weigert, *Schwermetalle in Lebensmitteln*, in: *Schwermetalle in der Umwelt: umwelthygienische und gesundheitliche Aspekte*, E. Lahmann, K. Jander (Hrsg.), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1987**.
- [90] A. Kabata-Pendias, H. Pendias, *Trace elements in soils and plants*, CRC Press, Boca Raton, **1984**.
- [91] S. Marianna, *Julius-Kühn-Archiv* **2009**, 424, 73-74.
- [92] J. Utermann, W. H. M. Duijnisveld, L. Godbersen, M. Fuchs, *Uran in Böden und Sickerwässern - gibt es Indizien für eine Phosphordünger-bürtige Uran-Anreicherung?*, in: *Jahrestagung der DBG „Böden - eine endliche Ressource“*, Bonn, **2009**.
- [93] F. Knolle, *Julius-Kühn-Archiv* **2009**, 424, 70-73.
- [94] R. Leschber, *Bewertung von Schwermetallgehalten in Böden und Klärschlämmen*, in: *Schwermetalle in der Umwelt: umwelthygienische und gesundheitliche Aspekte*, E. Lahmann, K. Jander (Hrsg.), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1987**.
- [95] W. Jonas, *Diplomarbeit*, Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg, **2005**.
- [96] R. Sattelberger, *Arzneimittelrückstände in der Umwelt - Bestandsaufnahme und Problemdarstellung*, Riegelnik Ges.m.b.H, Wien, **1999**.
- [97] I. Gerhard, B. Runnebaum, *Geburtsh. Frauenheilk.* **1992**, 52, 383-396.
- [98] E. Böhm, T. Hillenbrand, F. Marscheider-Weidemann, C. Schempp, S. Fuchs, U. Scherer, *Bilanzierung des Eintrags prioritärer Schwermetalle in Gewässer*, Forschungsbericht 298 22 243, Reportnr.: UBA-FB 000181, Bundesumweltamt UBA, Berlin **2001**.
- [99] K. Banat, U. Förstner, G. Müller, *Naturwissenschaften* **1972**, 59, 525-528.
- [100] L. Sigg, M. Sturm, W. Stumm, *Naturwissenschaften* **1982**, 69, 546-548.
- [101] H. H. Dieter, *Metalle als mögliche chemische Karzinogene*, in: *Schwermetalle in der Umwelt: umwelthygienische und gesundheitliche Aspekte*, E. Lahmann, K. Jander (Hrsg.), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1987**.
- [102] E. Meyer, *Blei im Trinkwasser und Abhilfestrategien*, in: *Schwermetalle in der Umwelt: umwelthygienische und gesundheitliche Aspekte*, E. Lahmann, K. Jander (Hrsg.), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1987**.
- [103] D. M. Stearns, M. Yazzie, A. S. Bradley, V. H. Coryell, J. T. Shelley, A. Ashby, C. S. Asplund, R. C. Lantz, *Mutagenesis* **2005**, 20(6), 417-423.
- [104] G. Binning, C. F. Quate, C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, 56, 930.
- [105] T. M. Balgar, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2005**.
- [106] *The NanoWizard AFM, Handbook*, Version 1.3, **2005**.
- [107] N. Hartmann, M. Ulbricht, *Modulpraktikum - Oberflächenfunktionalisierung von Materialien*, Universität Duisburg-Essen, **2007**.

- [108] *Skript zum Fortgeschrittenen-Praktikum der Physikalischen Chemie*, Universität Duisburg-Essen, **2006**.
- [109] D. Silbernagl, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2009**.
- [110] P. W. Atkins, J. de Paula, *Physikalische Chemie*, 4. vollständig überarbeitete Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [111] C. Rotsch, *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität München, **1999**.
- [112] J. Domke, *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität München, **2000**.
- [113] T. Keller, G. Wie, *Materialkundliches Praktikum - Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie*, Friedrich-Schiller-Universität Jena, **2011**.
- [114] http://www.schaefer-tec.com/uploads/pics/NaDiaProbe_Tip_Web_01.jpg
(Stand: 16.09.2011).
- [115] <http://www.team-nanotec.de/ktmlpro/images/uploads/lrch.jpg?0.8082165947513137>
(Stand: 16.09.2011).
- [116] <http://www.nanoworld.com/pointprobe-tapping-mode-afm-tip-nch> (Stand: 08.08.2012).
- [117] J. Bauer, M. Zähres, A. Zellermann, M. Kirsch, F. Petrat, H. de Groot, C. Mayer, *J. Microencapsulation* **2010**, 27, 122-132.
- [118] E. Spiller, *Dissertation*, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau, **2006**.
- [119] www.chem.uni-potsdam.de/anorganik/Konduktometrie.doc (Stand: 26.02.2012).
- [120] H. Helmers, *Modul Grundpraktikum Physik*, Carl-von-Ossietzky-Universität Oldenburg, **2011**.
- [121] R. C. Weast, M. J. Astle, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 62nd Edition, CRC Press, Boca Raton, **1981-1982**.
- [122] G. Wedler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, 5. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [123] *Praktikumsskript, Grundpraktikum der Physikalischen Chemie*, Technische Universität Clausthal, **2007**.
- [124] U. Großpietsch, *Dissertation*, Universität Gerhard-Mercator-Universität GH Duisburg, **2002**.
- [125] W. W. Yau, J. J. Kirkland, D. D. Bly, *Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography - Practice of Gel Permeation and Gel Filtration Chromatography*, John Wiley & Sons, New York, **1979**.
- [126] http://www.malvern.de/labger/technology/gel_permeation_chromatography_theory/gpc_sec_theory.htm (Stand: 11.02.2011).
- [127] H. Determann, *Gel Chromatography - Gel Filtration, Gel Permeation, Molecular sieves*, 2. Edition, Springer-Verlag, Berlin, **1969**.
- [128] B. J. Hunt, S. R. Holding, *Size Exclusion Chromatography*, Blackie and Son Ltd, London, **1989**.

- [129] A. Siewing, *Dissertation*, Technische Universität Darmstadt, **2002**.
- [130] R. Hodiamont, *Dissertation*, Universität Paderborn, **2006**.
- [131] D. Held, *Dissertation*, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, **2000**.
- [132] K. Wüthrich, *Angew. Chem.*, **2003**, 115, 3462-3486.
- [133] *CD Römpp Chemie Lexikon*, 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**.
- [134] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [135] I. Broekmann, *Dissertation*, Gerhard-Mercator-Universität Duisburg, **2002**.
- [136] A. Leson, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2007**.
- [137] S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, *100 and More Basic NMR Experiments: A Practical Course*, Wiley-VCH, Weinheim, **1996**.
- [138] H. Schwalbe, *Skript zur Vorlesung Organische Chemie IV*, Frankfurt am Main, **2010**.
- [139] E. Butler, *Bruker - Beginners Guide*, Version 002, Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, **2003**.
- [140] R. Kerssebaum, G. Salnikov, *DOSY and Diffusion by NMR - A Tutorial for TopSpin 2.0*, Version 2.0.0, Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, **2002-2006**.
- [141] C. S. Johnson, *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.* **1999**, 34, 203-256.
- [142] T. Pfohl, *Einführung in die Physikalische Chemie*, Universität Basel, **2010**.
- [143] Praktikumsskript, *Grundpraktikum der Physikalischen Chemie - Versuch B4, Viskosität*, Universität Wien, **2007**.
- [144] Bedienungsanleitung, *Low Shear 40*, Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, **1991**.
- [145] A. R. Kirby, A. P. Gunning, V. J. Morris, *Biopolymers* **1996**, 38, 355-366.
- [146] M. K. Cowman, M. Li, E. A. Balazs, *Biophys. J.* **1998**, 75(4), 2030-2037.
- [147] M. K. Cowman, M. Li, A. Dyal, E. A. Balazs, *Carbohydr. Polym.* **2000**, 41(3), 229-235.
- [148] J.-L. Jane, J. F. Robyt, D.-H. Huang, *Carbohydr. Res.* **1985**, 140(1), 21-35.
- [149] F. Zenhausern, M. Adrian, B. ten Heggeler-Bordier, R. Emch, M. Jobin, M. Taborelli, P. Descouts, *J. Struct. Biol.* **1992**, 108, 69-73.
- [150] C. Bustamante, D. Keller, G. Yang, *Curr. Opin. Struc. Biol.* **1993**, 3(3), 363-372.
- [151] W. Pigman, S. Rizvi, H. L. Holley, *Arthritis Rheum.* **1961**, 4(3), 240-252.
- [152] G. Matsumura, A. Herp, W. Pigman, *Radiat. Res.* **1966**, 28, 735-752.
- [153] W. Pigman, S. Rizvi, H. L. Holley, *Biochim. Biophys. Acta.* **1961**, 53, 237-254.
- [154] K. Jann, *Chemische Strukturaufklärung bakterieller Polysaccharide*, in: *Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung - Eine Einführung*, W. Burchard (Hrsg.), 1. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1985**.
- [155] M. Schmidt, W. Burchard, *Moleküleigenschaften in verdünnten Lösungen*, in: *Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung - Eine Einführung*, W. Burchard (Hrsg.), 1. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1985**.

8 Anhang


 Universität Duisburg – Essen
 Fakultät für Chemie
 Institut für Anorganische Chemie
Prof. Dr. Matthias Epple
 Labor für Mikroanalytik und Thermoanalyse
http://www.uni-due.de/chemie/ak_epple/

Prüfbericht
S.1/1

Auftraggeber: A. Zellermann
 Name: Prof. Hayer
 Arbeitskreis: 2623
 Telefon: im Hause
 Anschrift: im Hause

K. Brauner / V. Hiltkamp
 Universitätsstr. 2-5
 45117 Essen
 Gebäude S07 S00 D47
 Telefon: 0201/183-2881

Auftragsnummer: **0811-047**

| Zu prüfende Elemente | Verfahren | Messwerte | Einheit | Auflösungsverfahren |
|----------------------|---------------|-------------------|---------|---------------------|
| Ca | HM-AAS-FL-001 | <0.01 | % | HCl |
| K | " | <0.01 | % | |
| Mg | " | nicht nachweisbar | | |
| Na | " | 0.03 | % | |

Bemerkungen: Feststoff
 Cu, Ni, Zn in so geringen Mengen vorhanden, können wir nicht bestimmen! Fe nicht nachweisbar!


*) Das Analysenverfahren für dieses Element ist nicht akkreditiert.

Eingangsdatum: 25.8.11 Bearbeitungsdatum: von - bis 15.9. - 19.9.11 Ausgangsdatum: 19.9.11 Unterschrift: QM/Stellvertreter Blütenkamp

| Zu prüfende Elemente | Verfahren | Messwerte | Einheit | Auflösungsverfahren |
|----------------------|---------------|-------------------|---------|---------------------|
| Ca | HM-AAS-FL-001 | <0.01 | % | HCl |
| K | " | <0.01 | % | |
| Mg | " | nicht nachweisbar | % | |
| Na | " | 0.03 | % | |

Bemerkungen: Feststoff
 Cu, Ni, Zn in so geringen Mengen vorhanden, nicht bestimmbar! Fe nicht nachweisbar!

Abbildung A-1: Ergebnisse der AAS-Analyse von Dextran.


 Universität Duisburg – Essen
 Fakultät für Chemie
 Institut für Anorganische Chemie
Prof. Dr. Matthias Epple
 Labor für Mikroanalytik und Thermoanalyse
http://www.uni-due.de/chemie/ak_epple/

Prüfbericht
S.1/1

Auftraggeber: A. Zellermann
 Name: Prof. Hayer
 Arbeitskreis: 2623
 Telefon: im Hause
 Anschrift: im Hause

K. Brauner / V. Hiltkamp
 Universitätsstr. 2-5
 45117 Essen
 Gebäude S07 S00 D47
 Telefon: 0201/183-2881

Auftragsnummer: **0811-043**

| Zu prüfende Elemente | Verfahren | Messwerte | Einheit | Auflösungsverfahren | |
|----------------------|---------------|-----------|---------|---------------------|-----|
| Ca | HM-AAS-FL-001 | 0.02 | 0.02 | % | HCl |
| K | " | 0.01 | 0.01 | % | |
| Mg | " | <0.01 | | % | |
| Na | " | 6.8 | 6.39 | % | |

Bemerkungen: Feststoff
 Cu, Ni, Zn in so geringen Mengen vorhanden, können wir nicht bestimmen! Fe nicht nachweisbar!

*) Das Analysenverfahren für dieses Element ist nicht akkreditiert.


Eingangsdatum: 25.8.11 Bearbeitungsdatum: von - bis 15.9. - 19.9.11 Ausgangsdatum: 19.9.11 Unterschrift: QM/Stellvertreter Blütenkamp

| Zu prüfende Elemente | Verfahren | Messwerte | | Einheit | Auflösungsverfahren |
|----------------------|---------------|-----------|------|---------|---------------------|
| Ca | HM-AAS-FL-001 | 0.02 | 0.02 | % | HCl |
| K | " | 0.01 | 0.01 | % | |
| Mg | " | <0.01 | | % | |
| Na | " | 6.8 | 6.39 | % | |

Bemerkungen: Feststoff

Cu, Ni, Zn in so geringen Mengen vorhanden, nicht bestimmbar! Fe nicht nachweisbar!

Abbildung A-2: Ergebnisse der AAS-Analyse von Natriumhyaluronat.


 Universität Duisburg – Essen
 Fakultät für Chemie
 Institut für Anorganische Chemie
Prof. Dr. Matthias Epple
 Labor für Mikroanalytik und Thermoanalyse
 http://www.uni-due.de/chemie/ak_epple/

DGA-PL-6646.09

Prüfbericht

S.1/1
 Auftraggeber: Zellermann
 Name: Mayer
 Arbeitskreis: 2623
 Telefon: im Hause
 Anschrift: 0511-083

K. Brauner / V. Hiltkamp
 Universitätsstr. 2-5
 45117 Essen
 Gebäude S07 S00 D47
 Telefon: 0201/113-2881

Auftragsnummer: 0511-083

azalg 1

| Zu prüfende Elemente | Verfahren | Messwerte | Einheit | Aufschlussverfahren |
|----------------------|---------------|-------------|---------|---------------------|
| Ca | HM-AAS-FL-001 | 0,18 0,24 | % | Salzsäure |
| Na | " | 11,23 11,18 | % | " |
| Mg | " | <0,1 | % | " |

Bemerkungen: Feststoff

*) Das Analysenverfahren für dieses Element ist nicht akkreditiert.

Eingangsdatum: 25.5.11 Bearbeitungsdatum: von – bis 30.5 – 3.8.11 Ausgangsdatum: 8.8.11 Unterschrift: QM/Stellvertreter K. Brauner

| Zu prüfende Elemente | Verfahren | Messwerte | | Einheit | Aufschlussverfahren |
|------------------------|---------------|-----------|-------|---------|---------------------|
| Ca | HM-AAS-FL-001 | 0.18 | 0.24 | % | HCl |
| Na | " | 11.23 | 11.18 | % | |
| Mg | " | <0.1 | | % | |
| Bemerkungen: Feststoff | | | | | |

Abbildung A-3: Ergebnisse der AAS-Analyse von Natriumalginat.

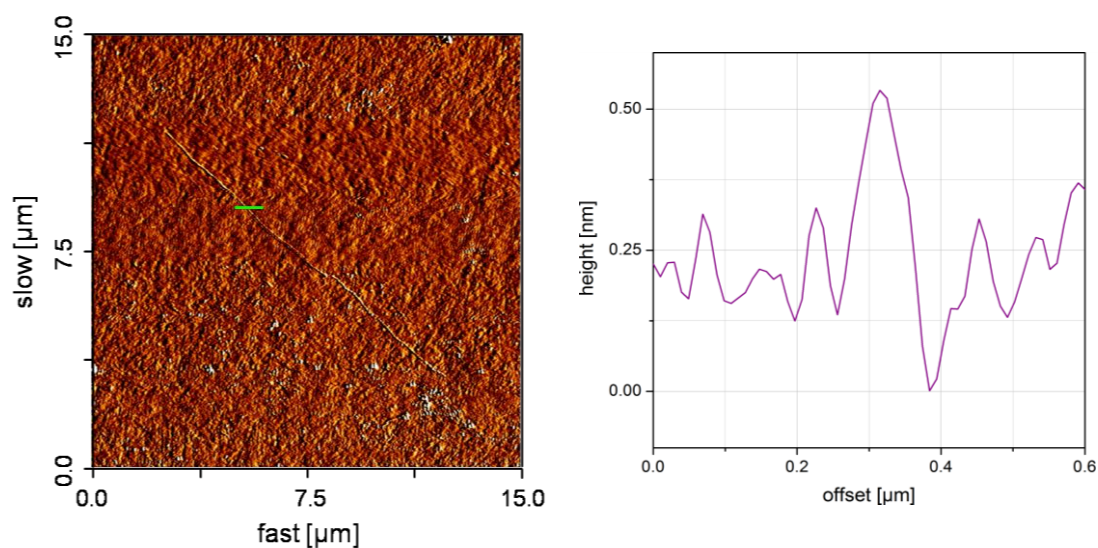


Abbildung A-4: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

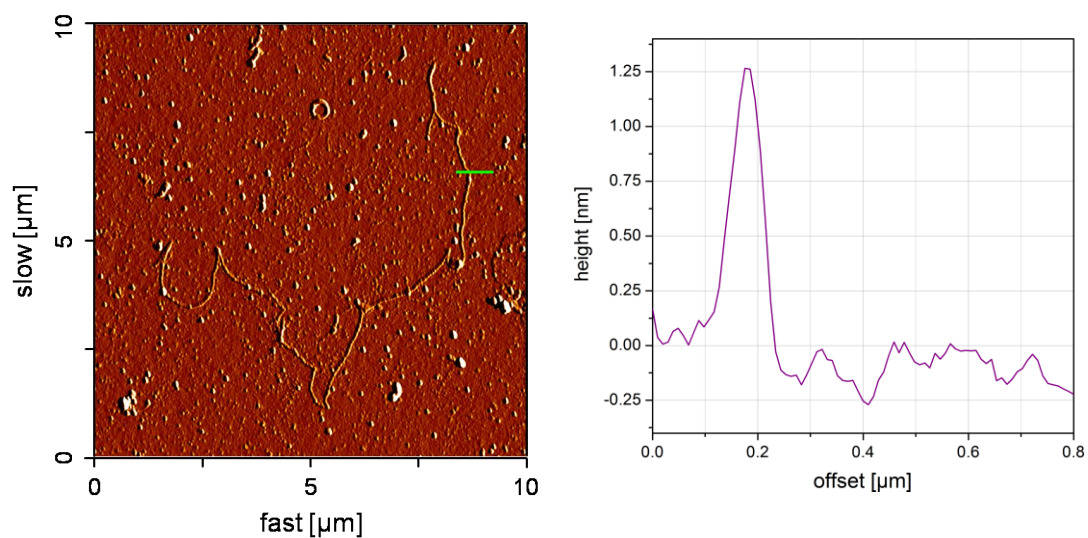


Abbildung A-5: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Dextran-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

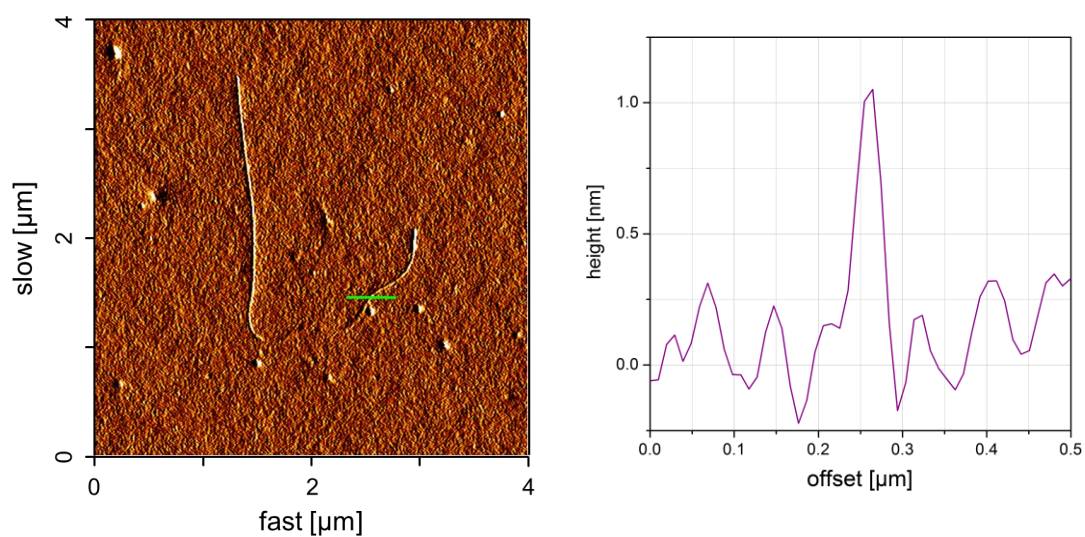


Abbildung A-6: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

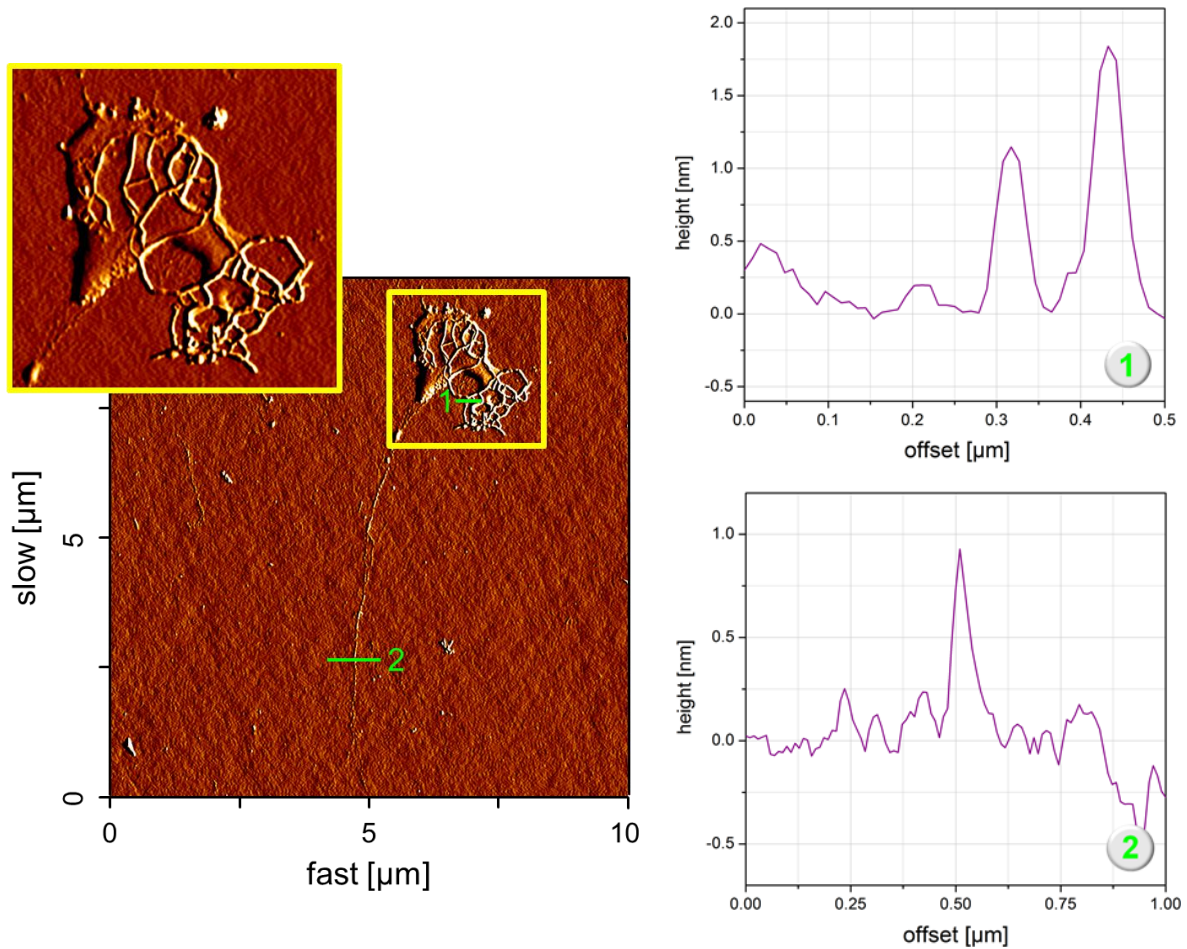


Abbildung A-7: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium einschließlich Ausschnittsvergrößerung und zugehörigen Höhenprofilen in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

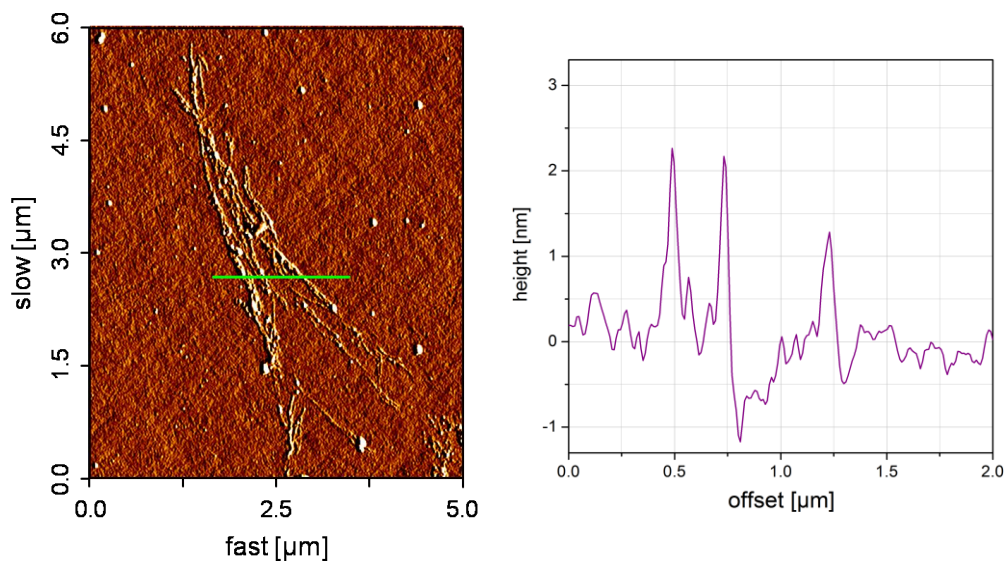


Abbildung A-8: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

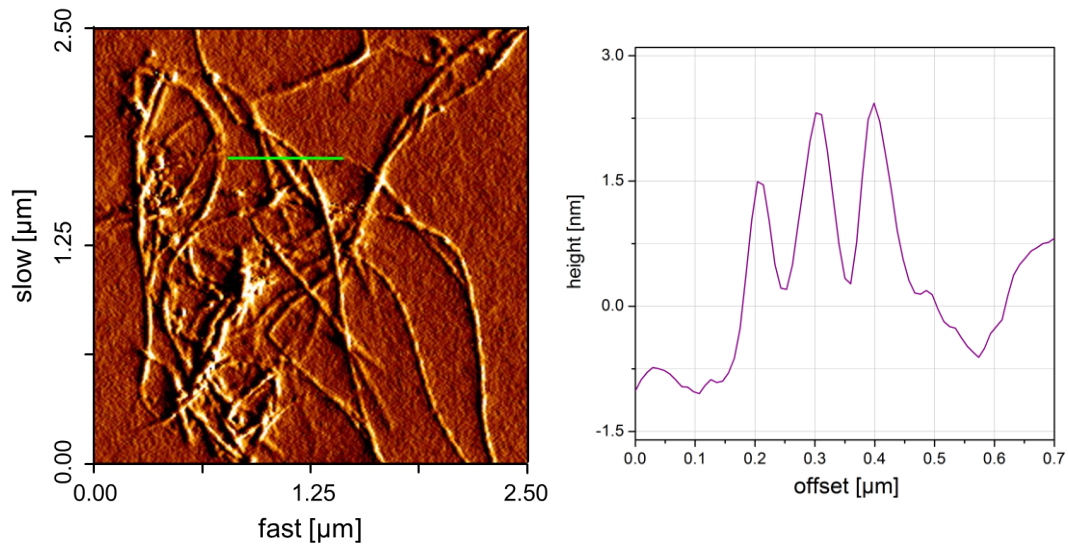


Abbildung A-9: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Hyaluronat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

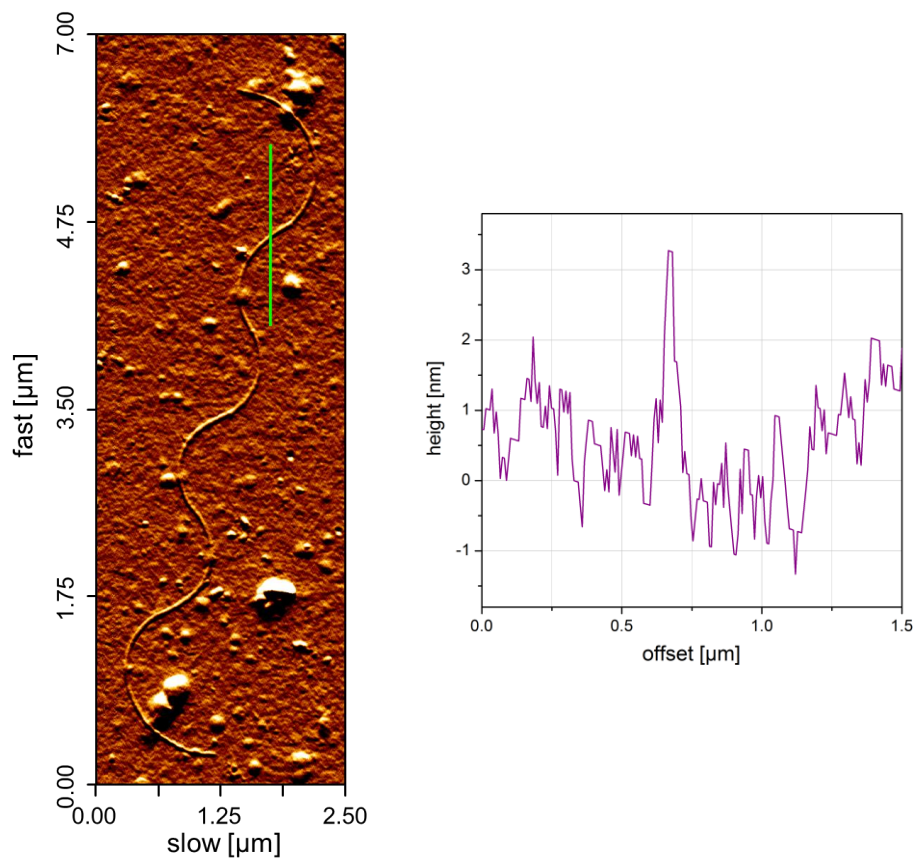


Abbildung A-10: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginate-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

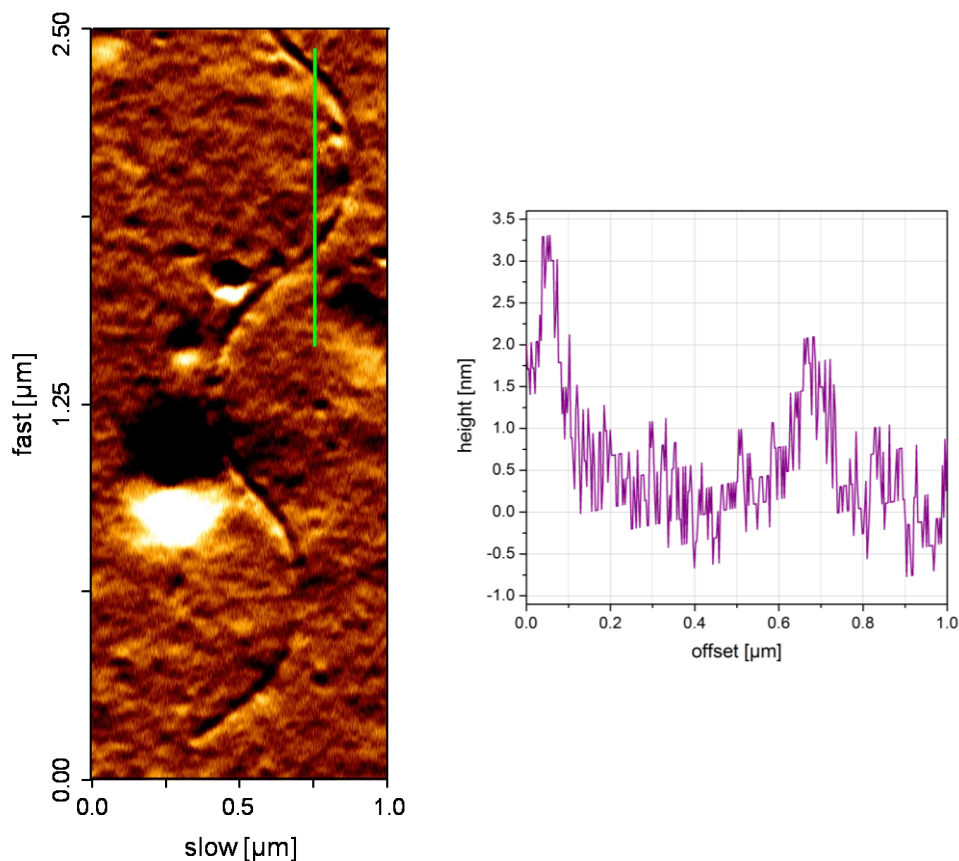


Abbildung A-11: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

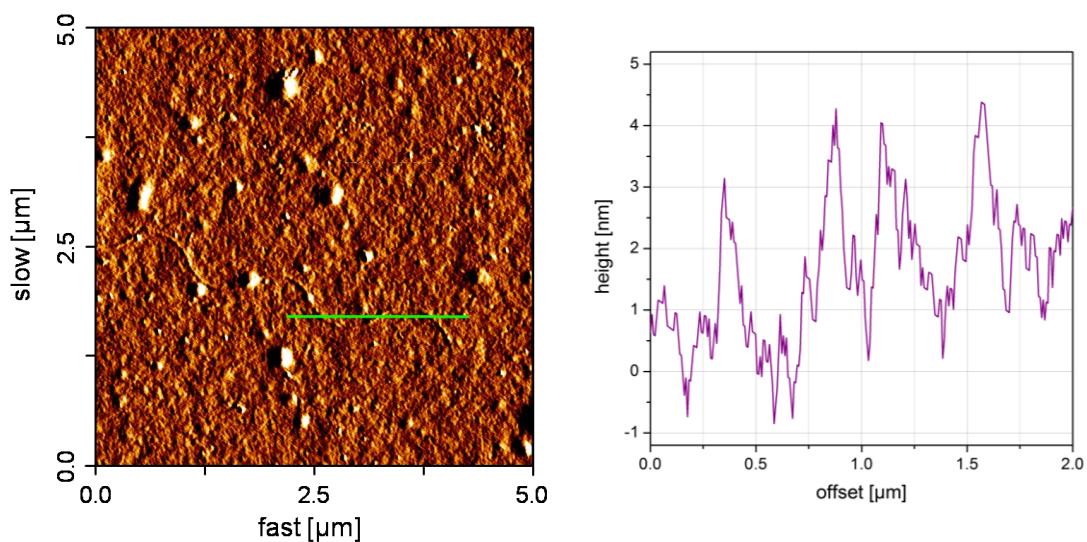


Abbildung A-12: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

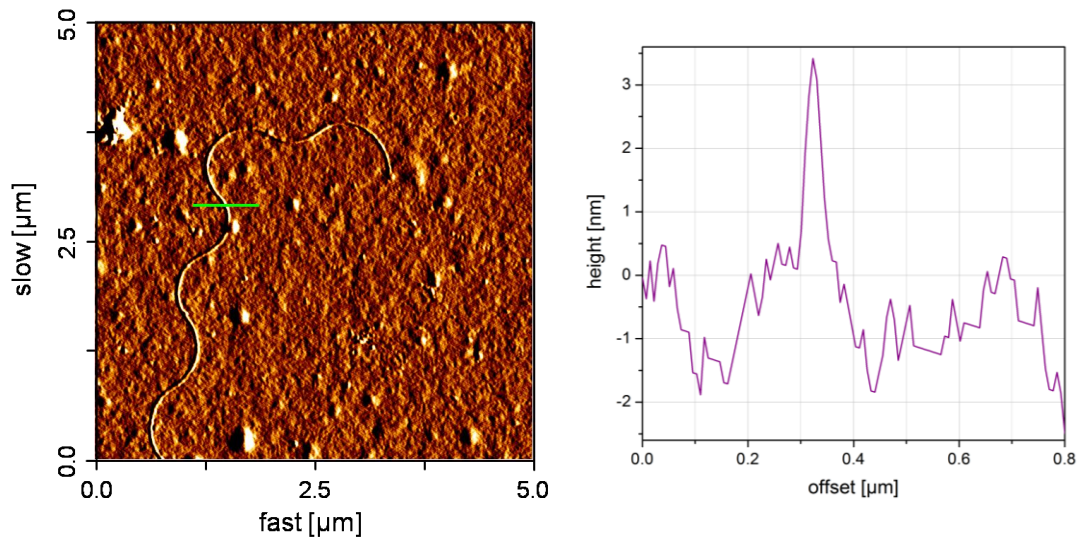


Abbildung A-13: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

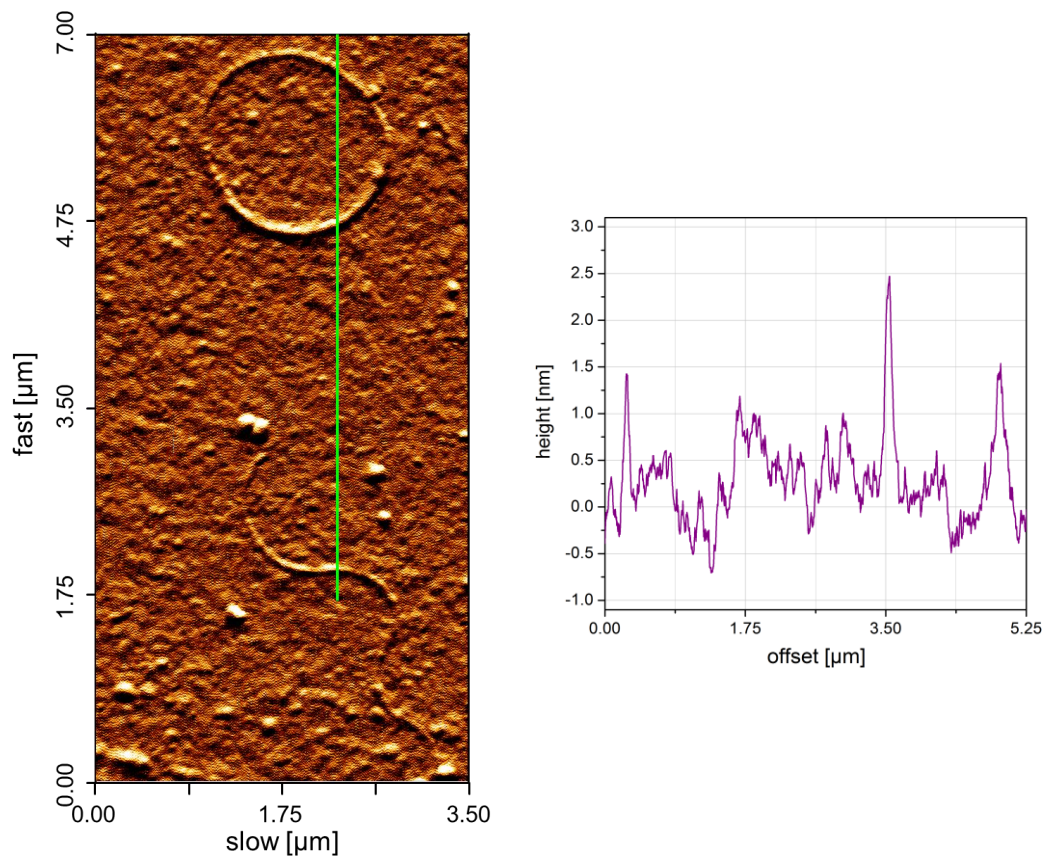


Abbildung A-14: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

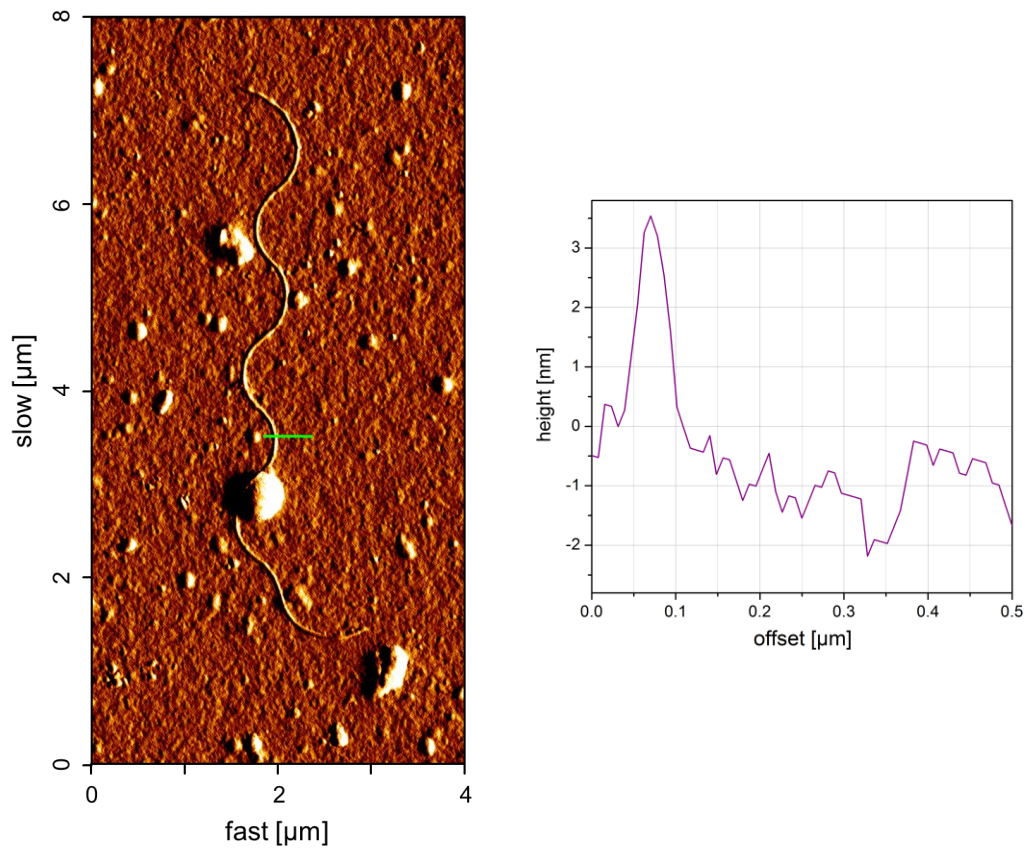


Abbildung A-15: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

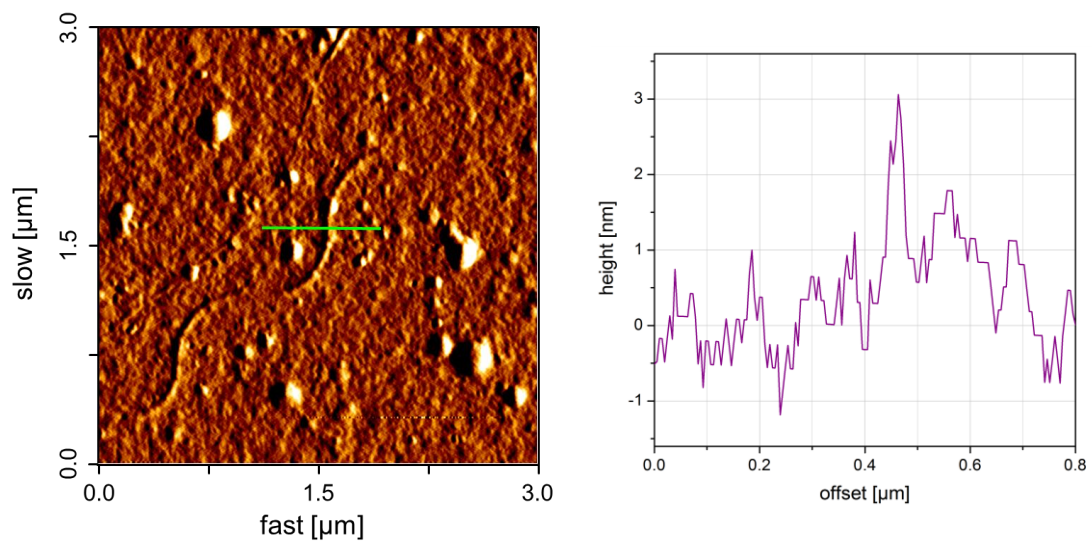


Abbildung A-16: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Abwesenheit mehrwertiger Kationen.

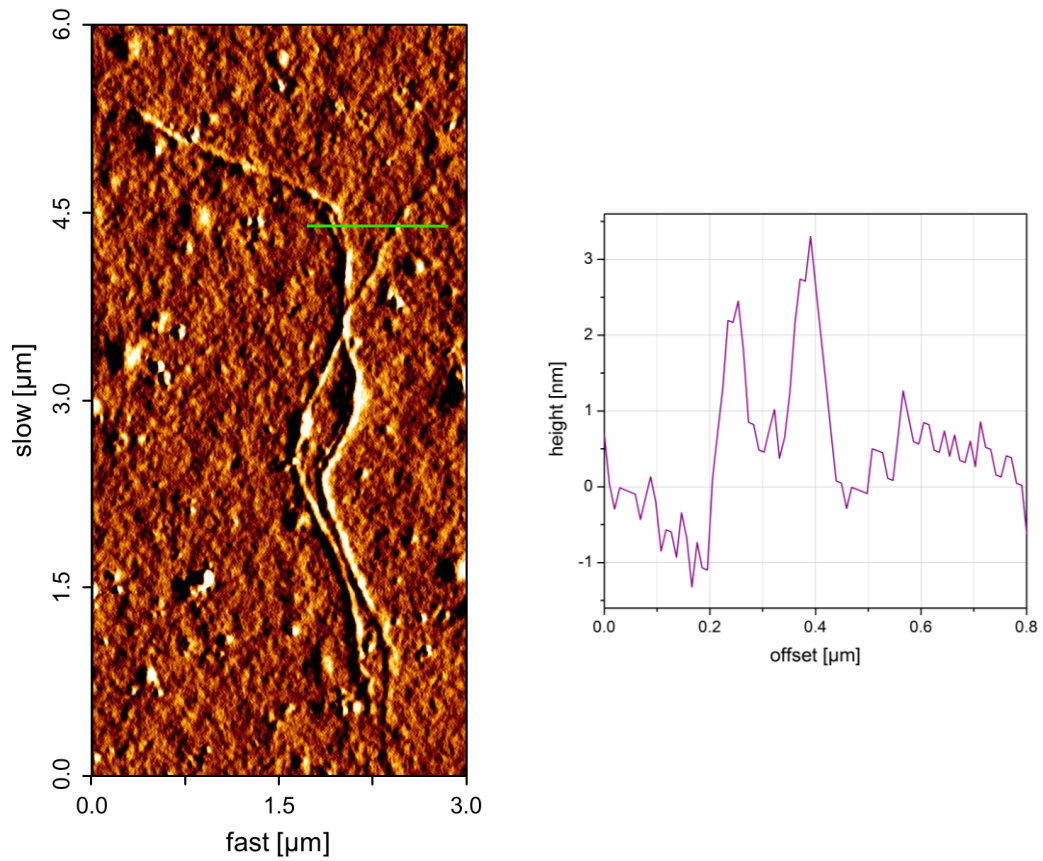


Abbildung A-17: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

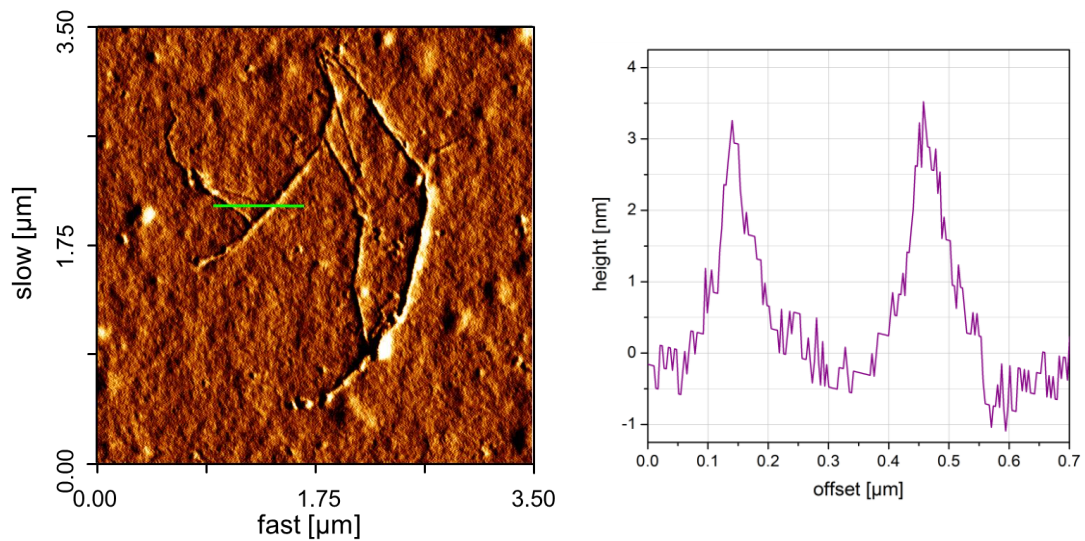


Abbildung A-18: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

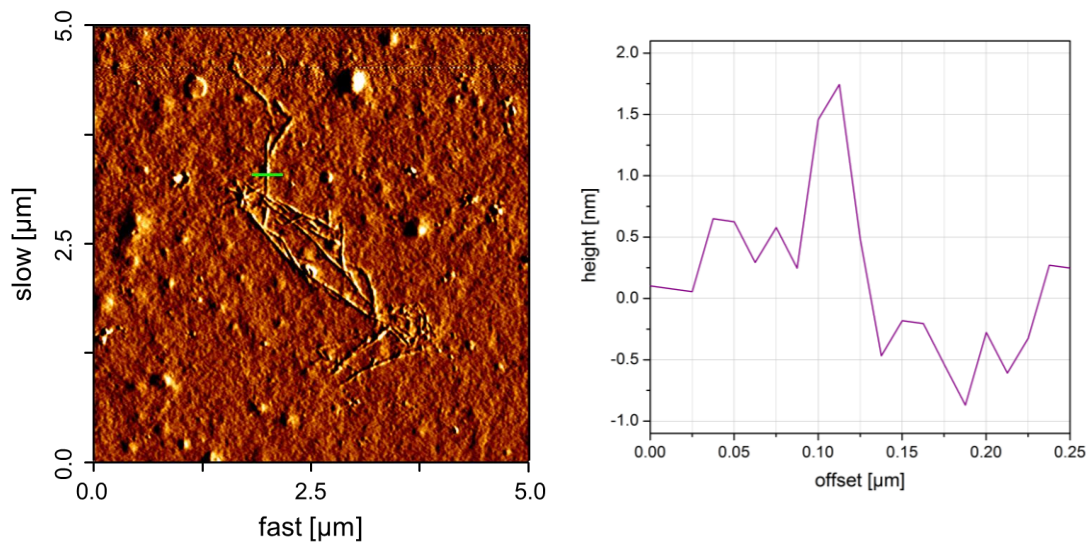


Abbildung A-19: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

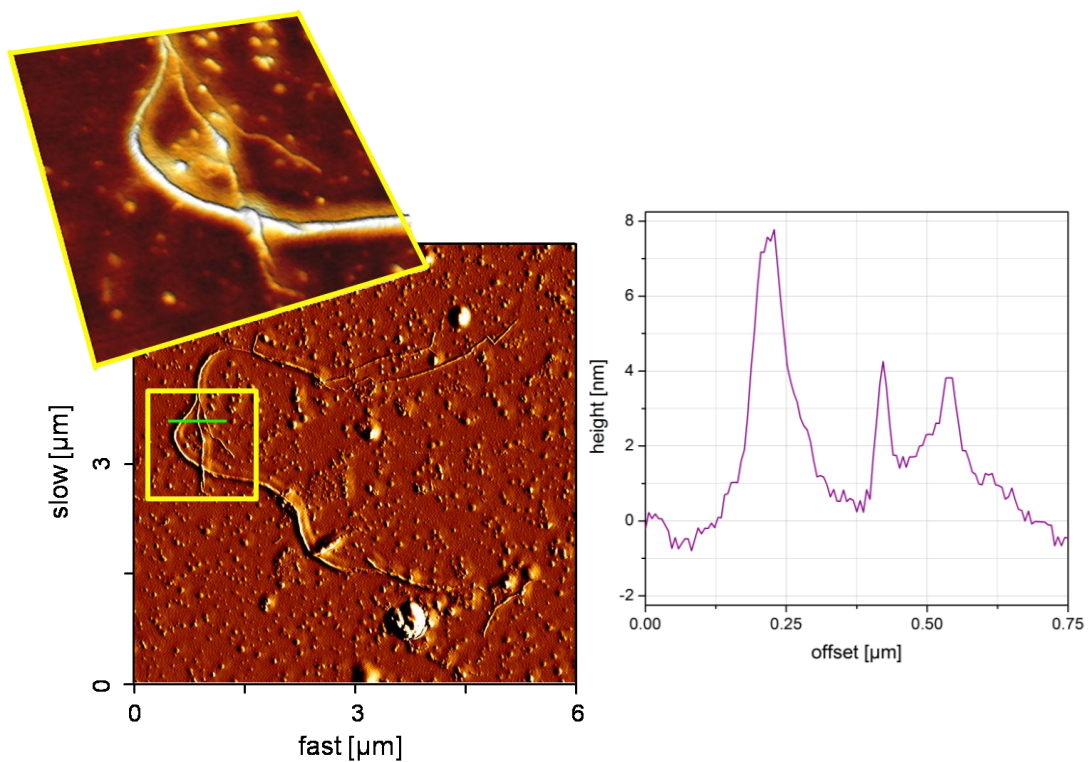


Abbildung A-20: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

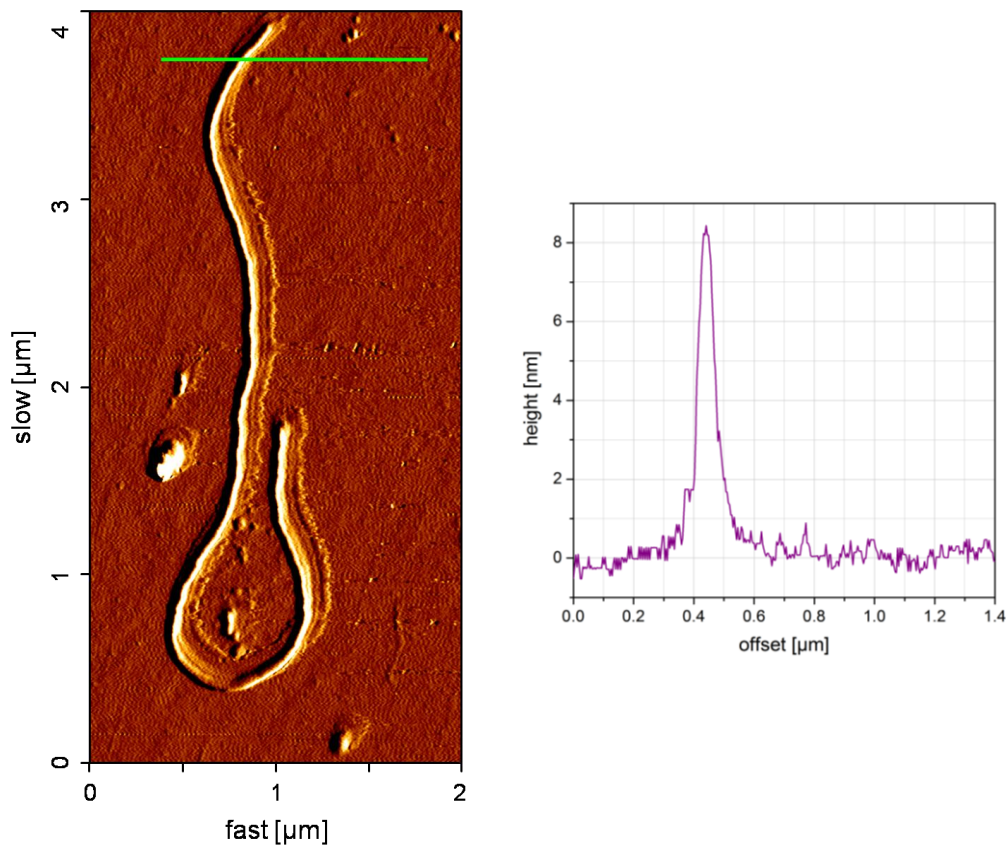


Abbildung A-21: AFM-Aufnahme (Errorsignal) einer Alginat-Probe auf Silizium mit zugehörigem Höhenprofil in Gegenwart bivalenter Bariumkationen.

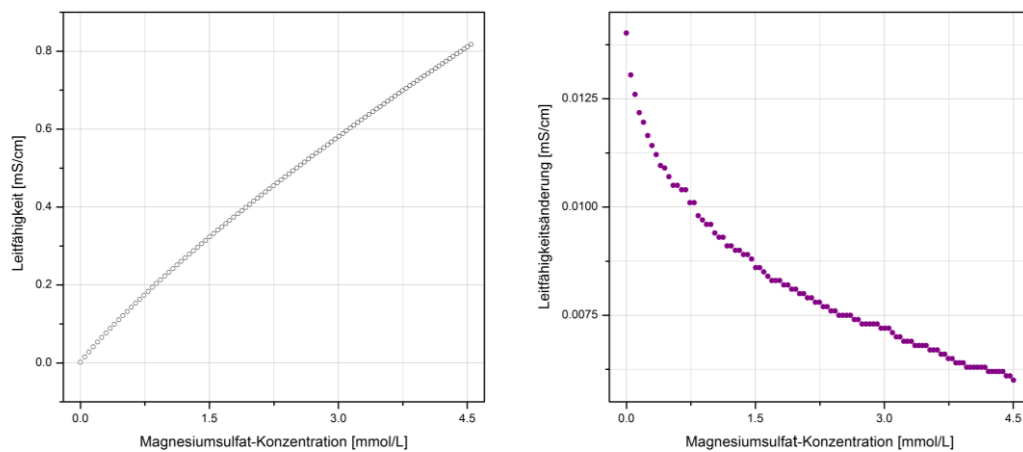


Abbildung A-22: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Magnesiumsulfat zu Wasser.

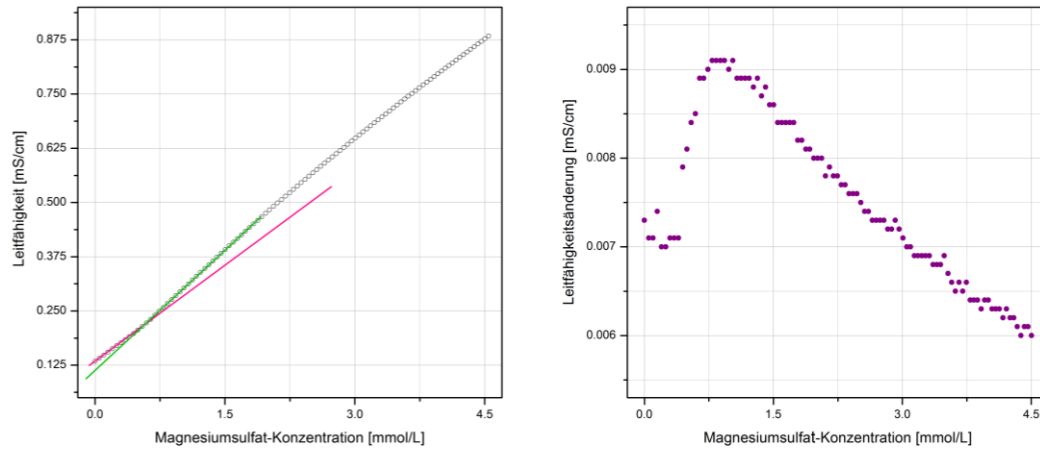


Abbildung A-23: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Magnesiumsulfat zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

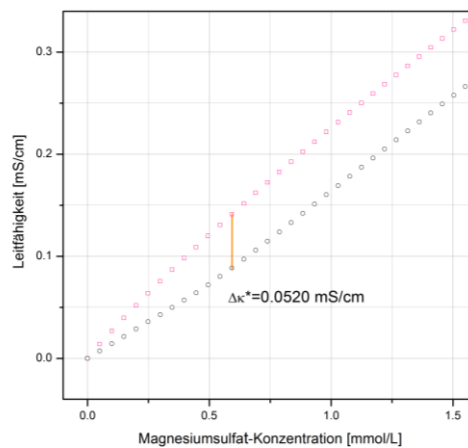


Abbildung A-24: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Magnesiumsulfat.

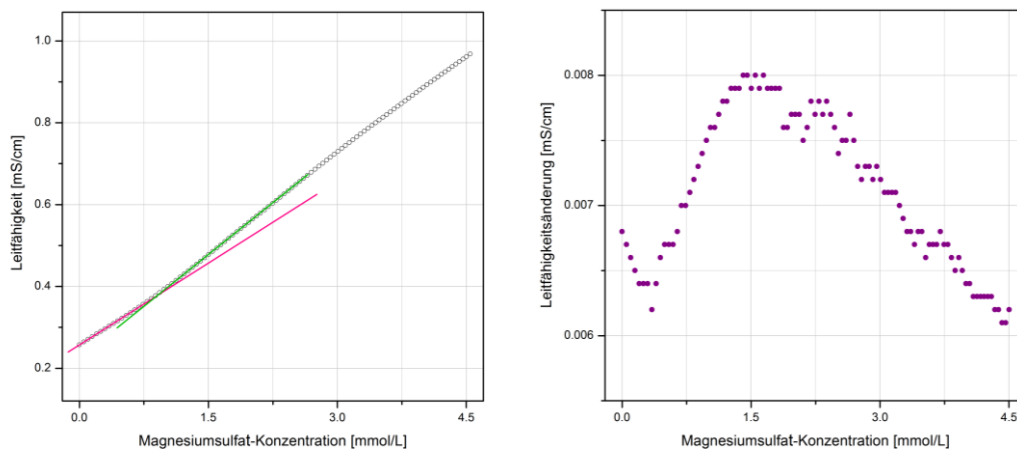


Abbildung A-25: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Magnesiumsulfat zu einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung.

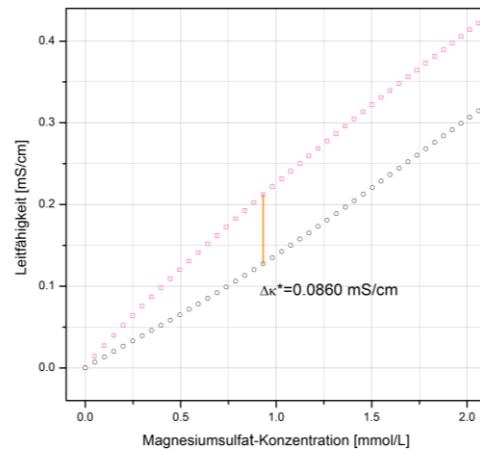


Abbildung A-26: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Magnesiumsulfat.

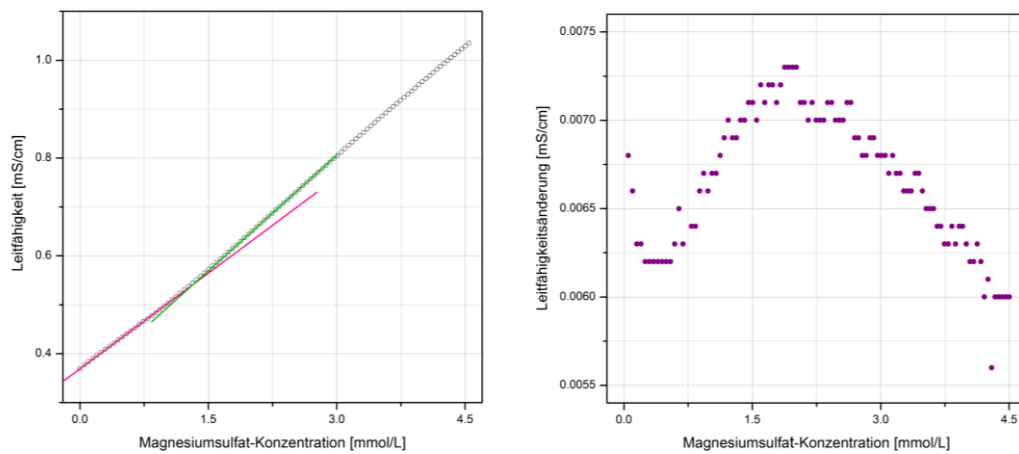


Abbildung A-27: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Magnesiumsulfat zu einer 1.5 mg/mL Alginat-Lösung.

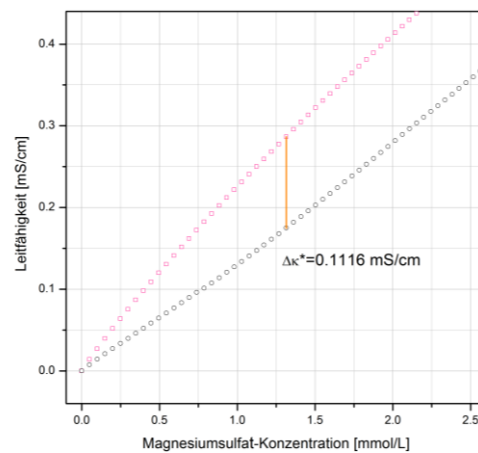


Abbildung A-28: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Magnesiumsulfat.

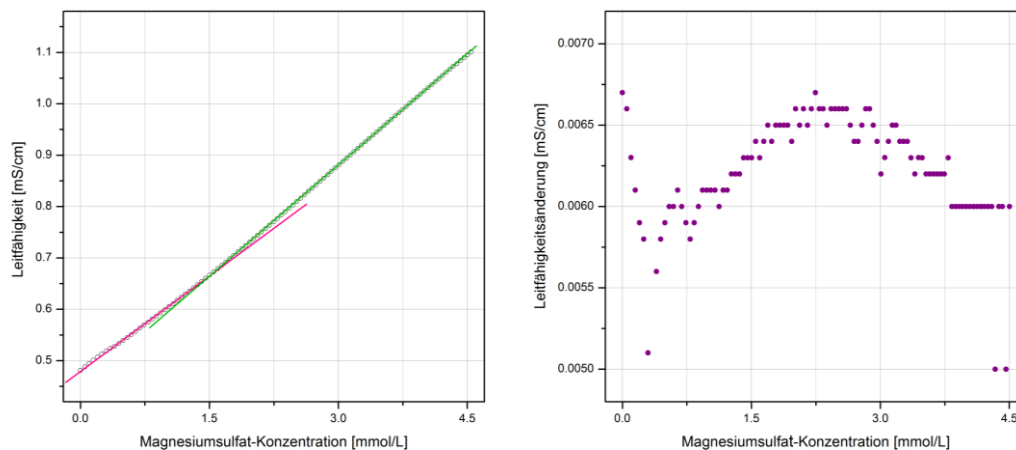


Abbildung A-29: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Magnesiumsulfat zu einer 2.0 mg/mL Alginat-Lösung.

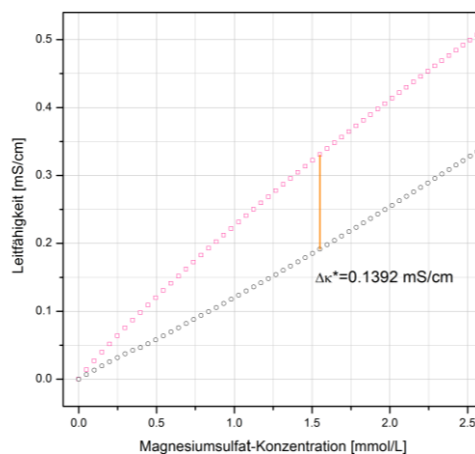


Abbildung A-30: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 2.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Magnesiumsulfat.

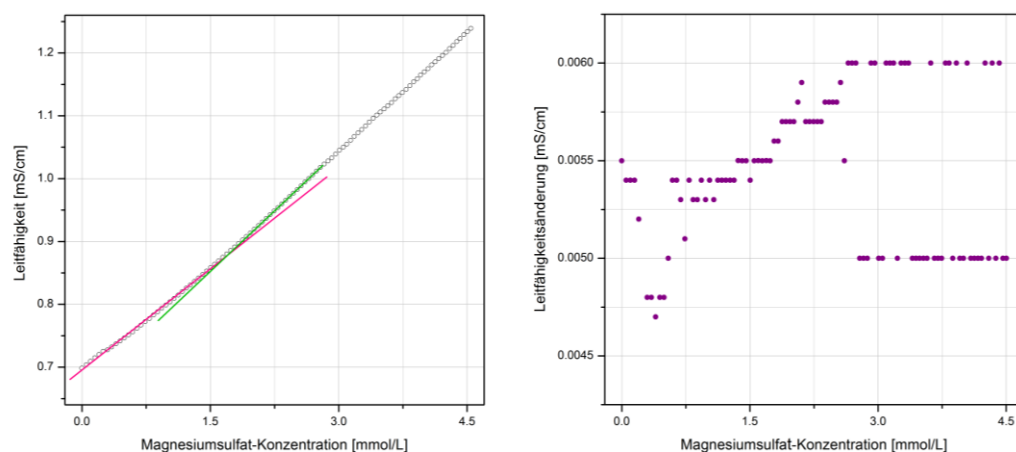


Abbildung A-31: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Magnesiumsulfat zu einer 3.0 mg/mL Alginat-Lösung.

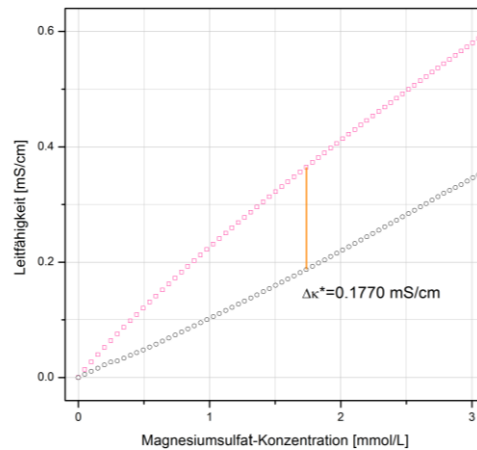


Abbildung A-32: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 3.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Magnesiumsulfat.

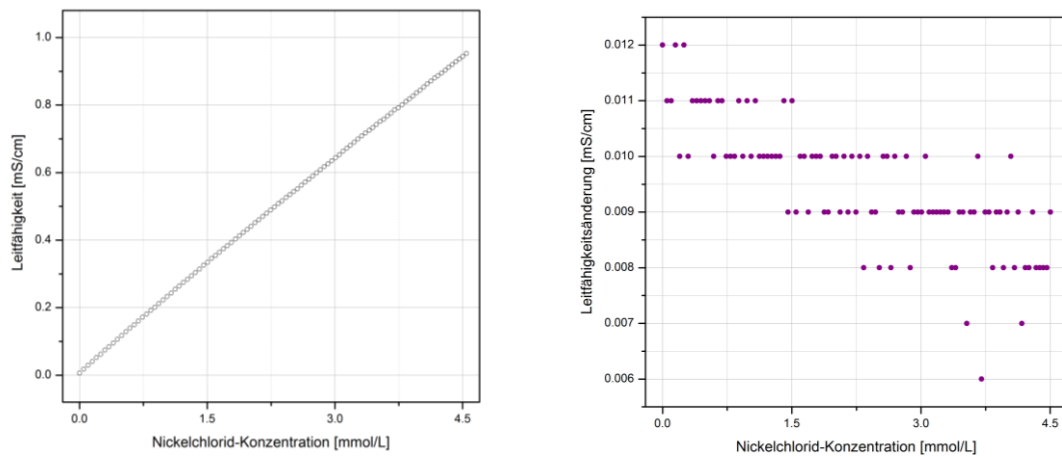


Abbildung A-33: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Nickelchlorid zu Wasser.

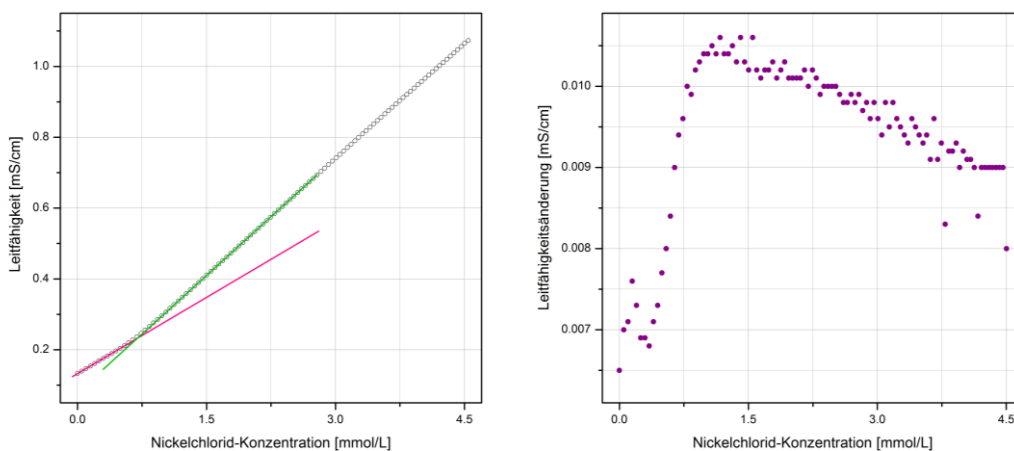


Abbildung A-34: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Nickelchlorid zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

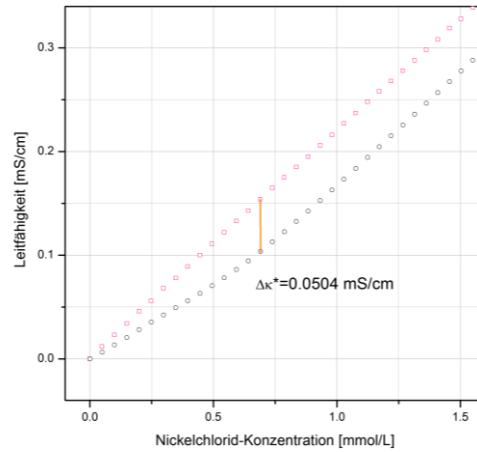


Abbildung A-35: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Nickelchlorid.

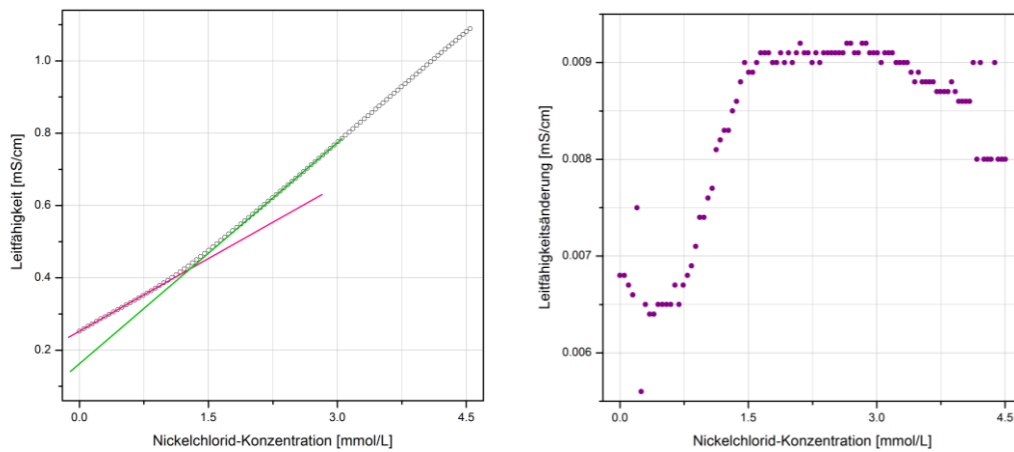


Abbildung A-36: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Nickelchlorid zu einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung.

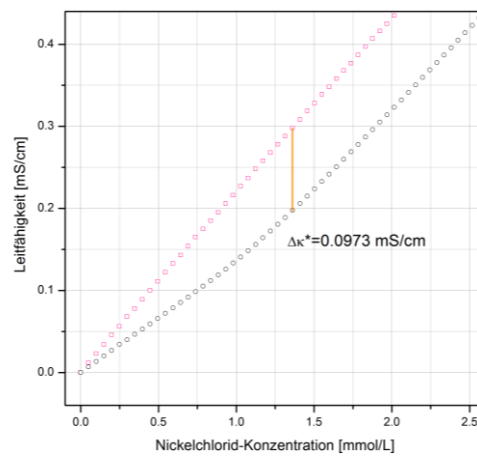


Abbildung A-37: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Nickelchlorid.

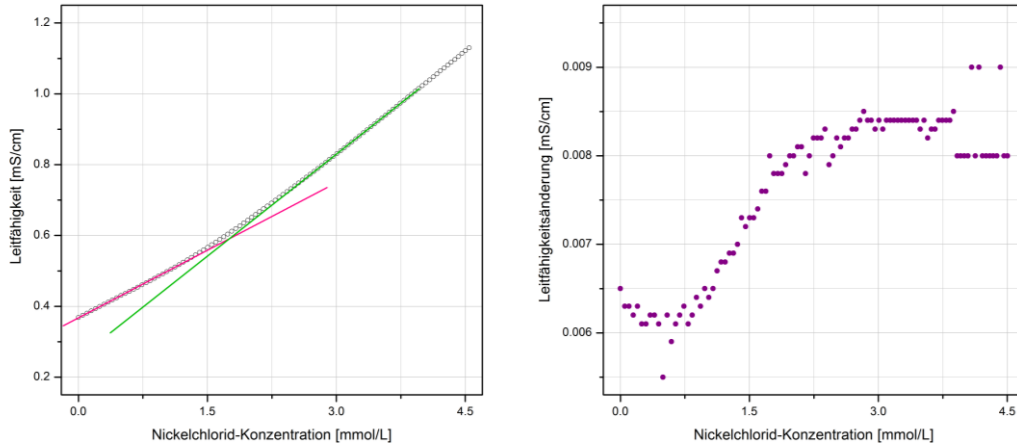


Abbildung A-38: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Nickelchlorid zu einer 1.5 mg/mL Alginat-Lösung.

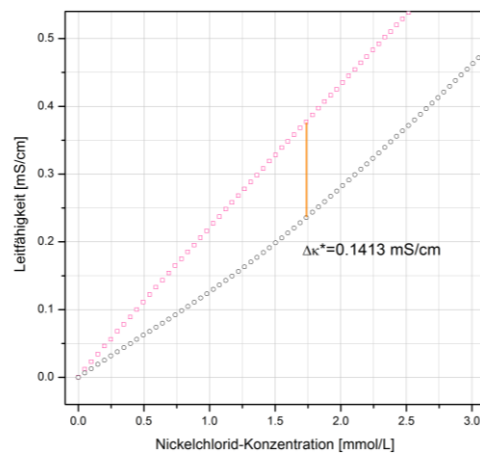


Abbildung A-39: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Nickelchlorid.

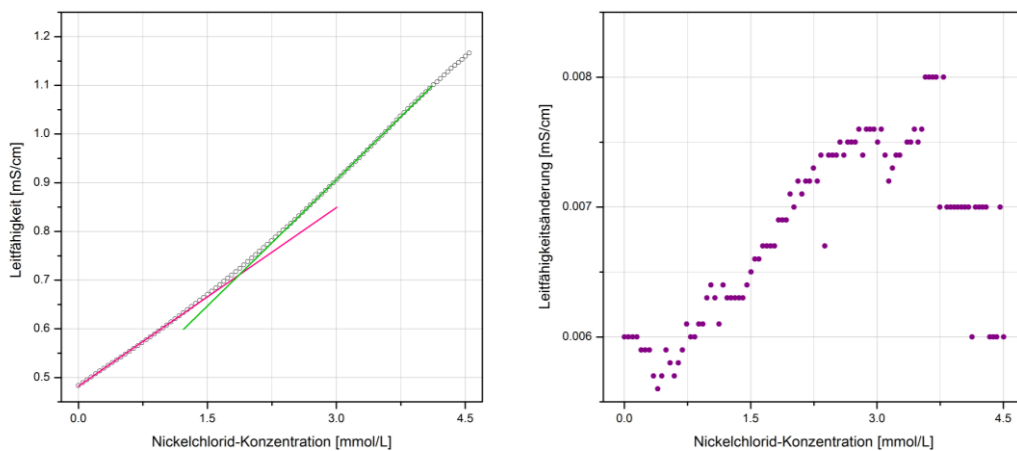


Abbildung A-40: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Nickelchlorid zu einer 2.0 mg/mL Alginat-Lösung.

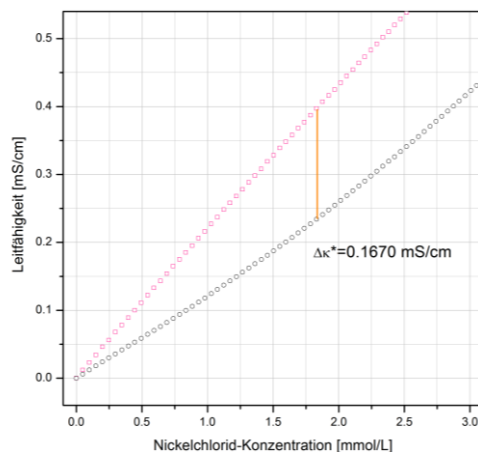


Abbildung A-41: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 2.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Nickelchlorid.

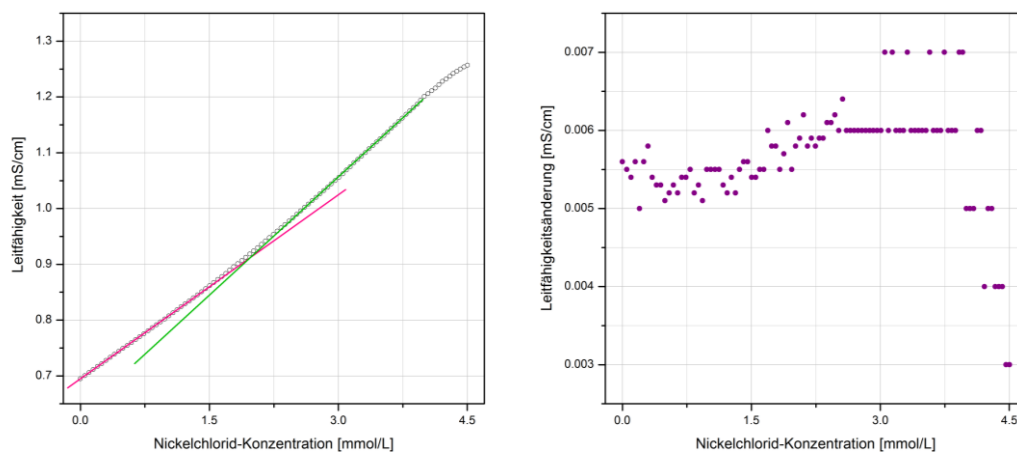


Abbildung A-42: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Nickelchlorid zu einer 3.0 mg/mL Alginat-Lösung.

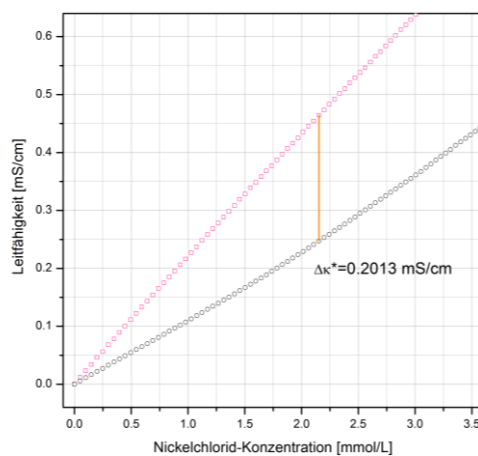


Abbildung A-43: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 3.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Nickelchlorid.

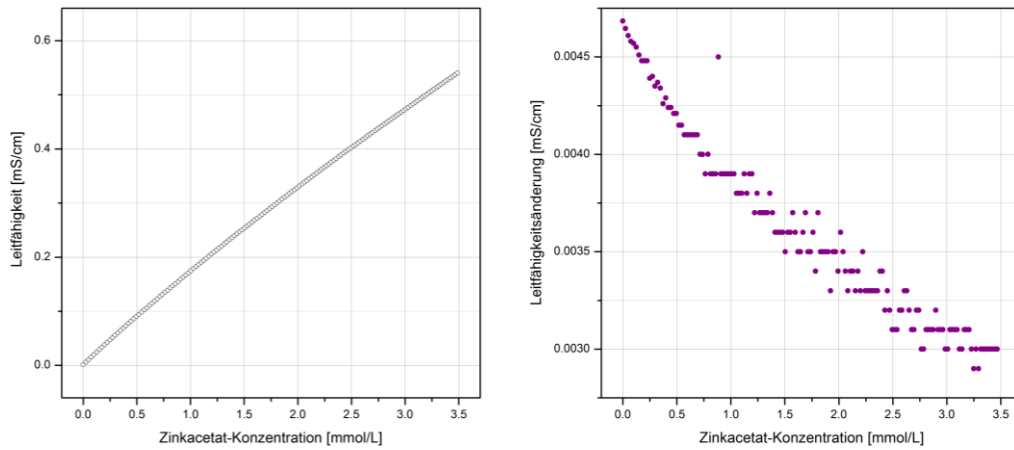


Abbildung A-44: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu Wasser.

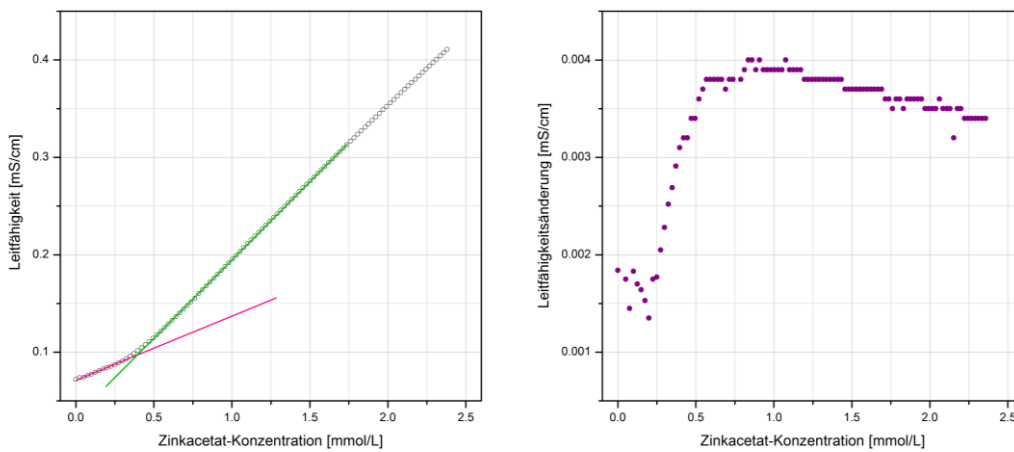


Abbildung A-45: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu einer 0.25 mg/mL Alginate-Lösung.

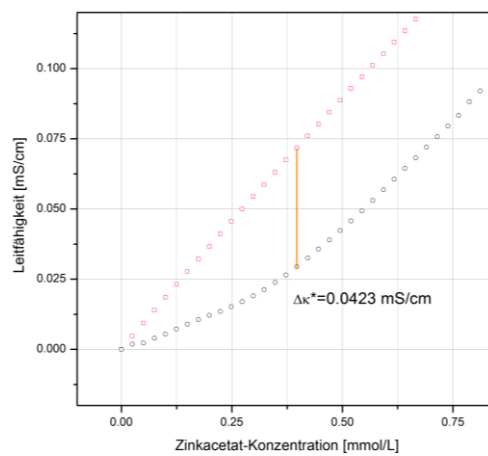


Abbildung A-46: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.25 mg/mL Alginate-Lösung mit Zinkacetat.

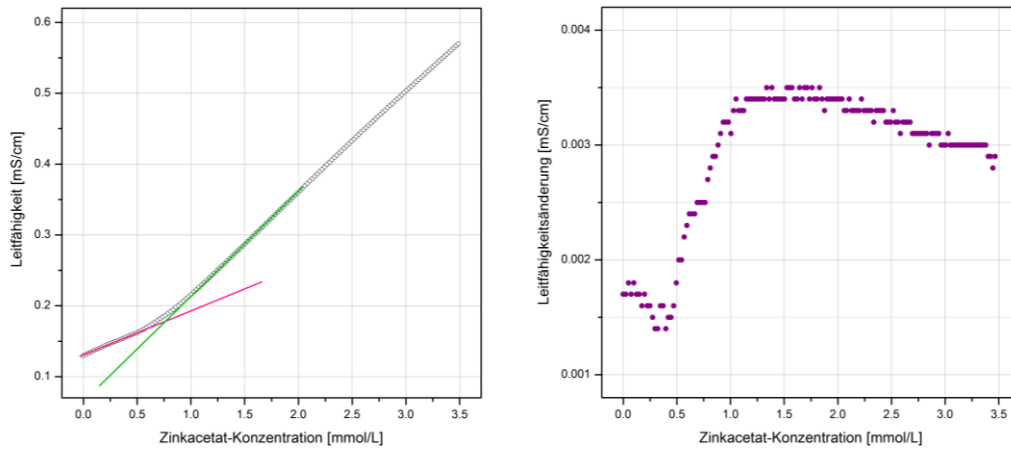


Abbildung A-47: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

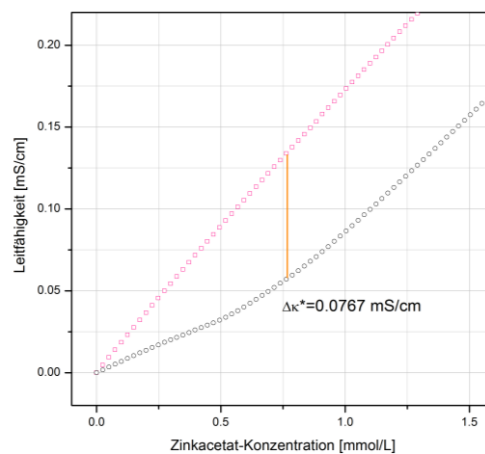


Abbildung A-48: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Zinkacetat.

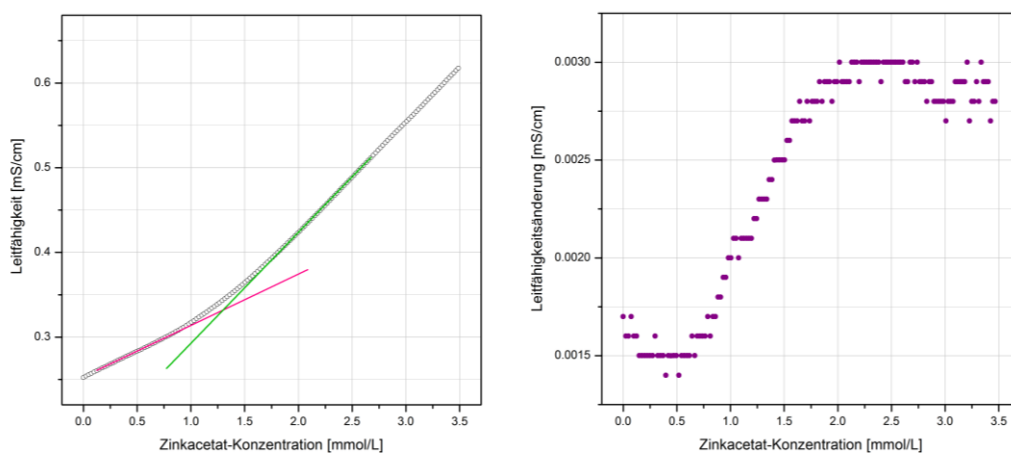


Abbildung A-49: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung.

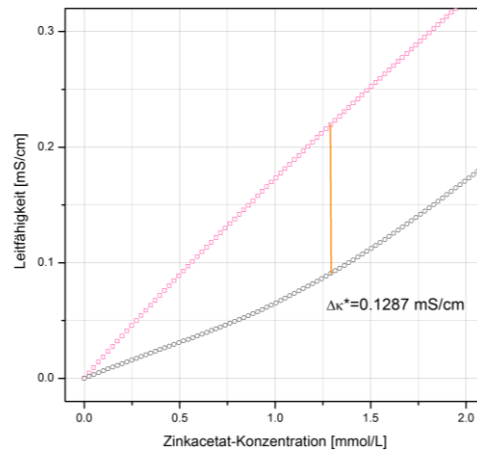


Abbildung A-50: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Zinkacetat.

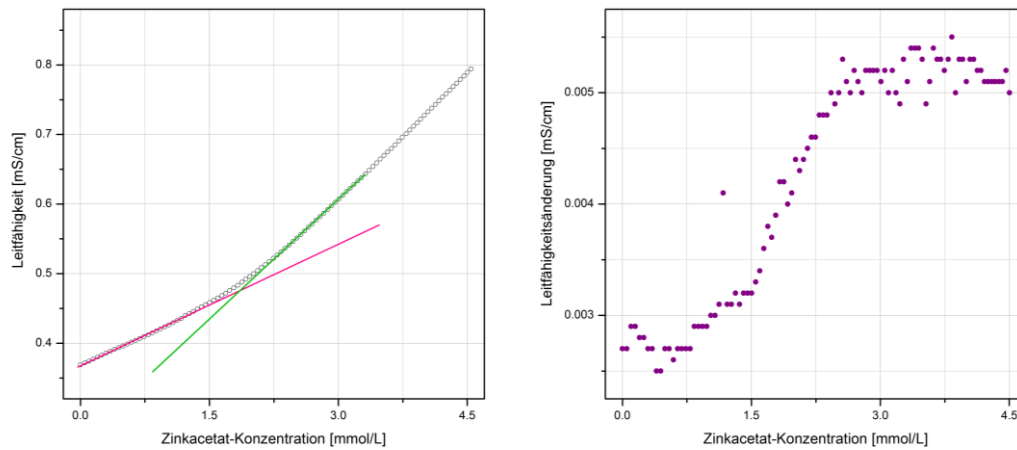


Abbildung A-51: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu einer 1.5 mg/mL Alginat-Lösung.

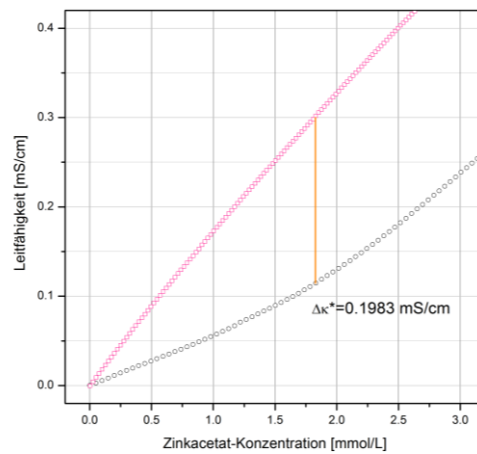


Abbildung A-52: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Zinkacetat.

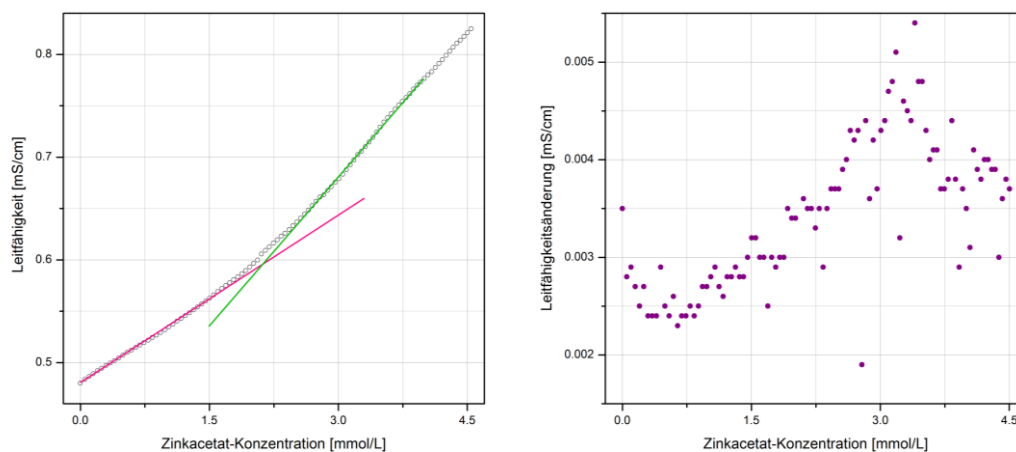


Abbildung A-53: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Zinkacetat zu einer 2.0 mg/mL Alginat-Lösung.

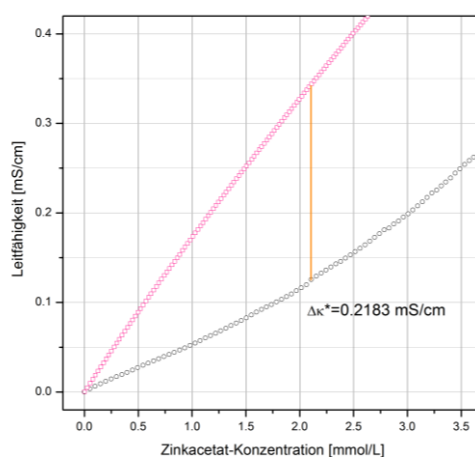


Abbildung A-54: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 2.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Zinkacetat.

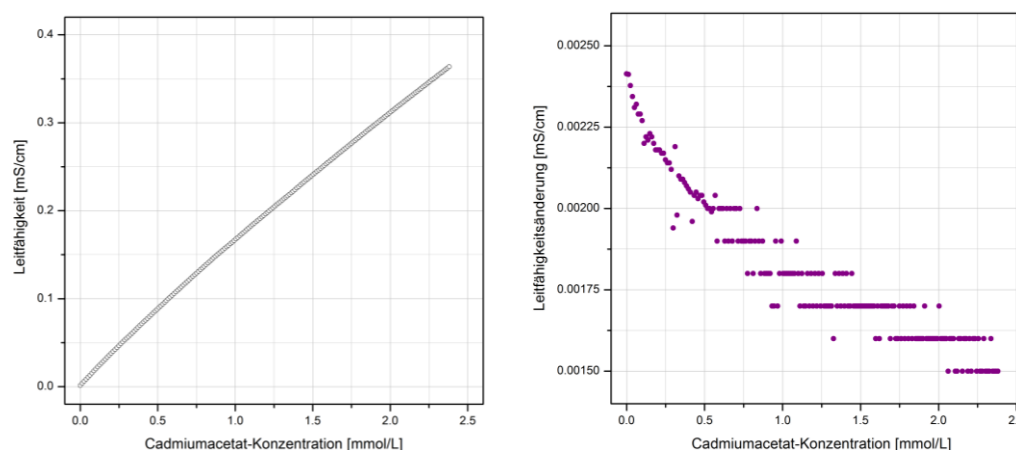


Abbildung A-55: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Cadmiumacetat zu Wasser.

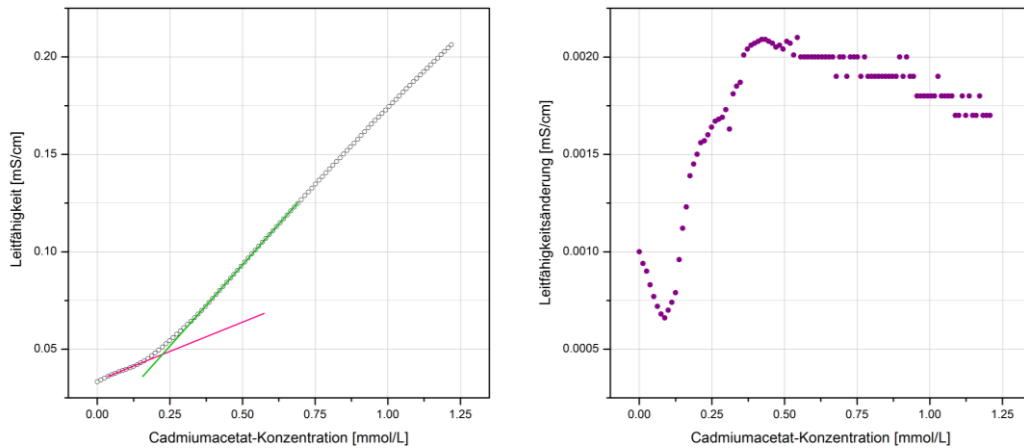


Abbildung A-56: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Cadmiumacetat zu einer 0.125 mg/mL Alginat-Lösung.

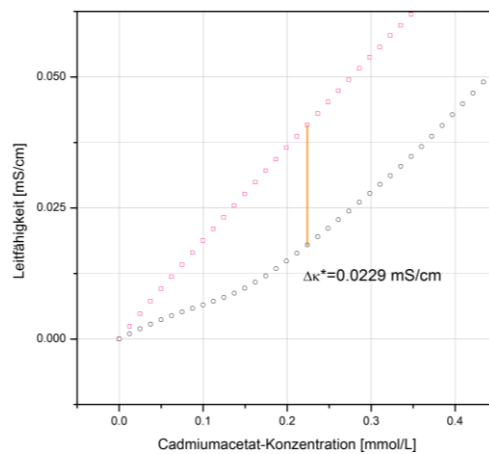


Abbildung A-57: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.125 mg/mL Alginat-Lösung mit Cadmiumacetat.

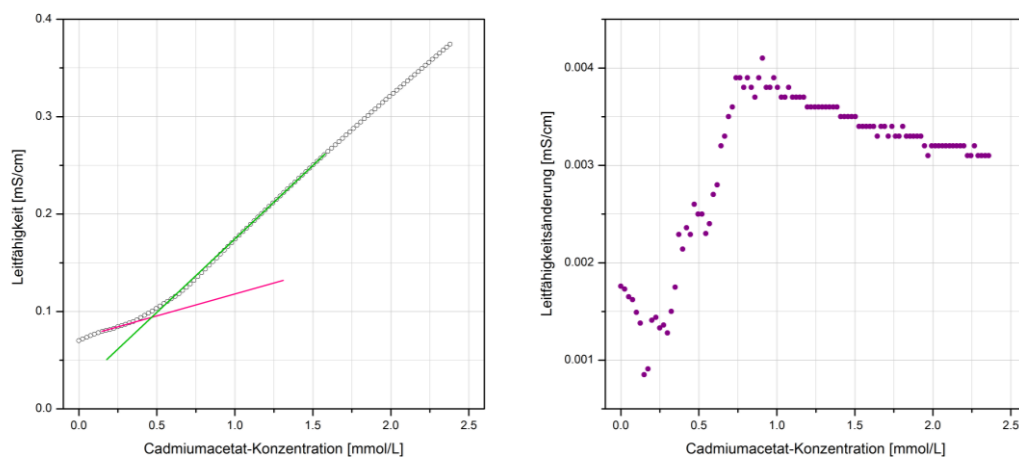


Abbildung A-58: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Cadmiumacetat zu einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung.

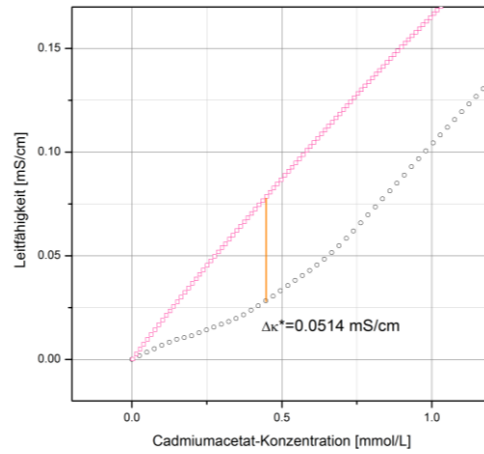


Abbildung A-59: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung mit Cadmiumacetat.

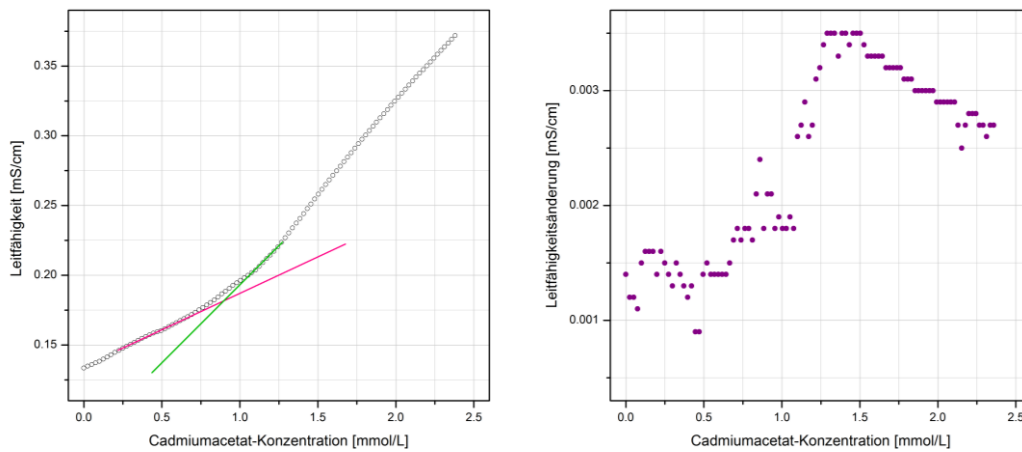


Abbildung A-60: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Cadmiumacetat zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

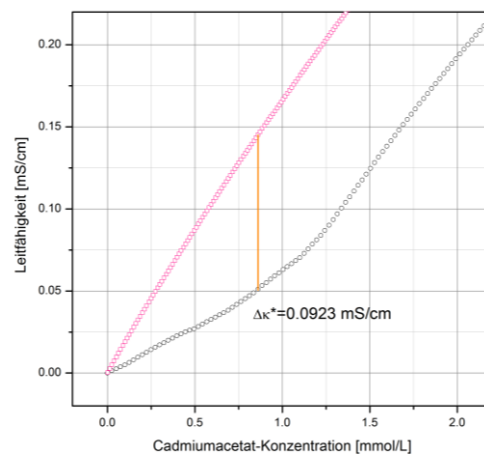


Abbildung A-61: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Cadmiumacetat.

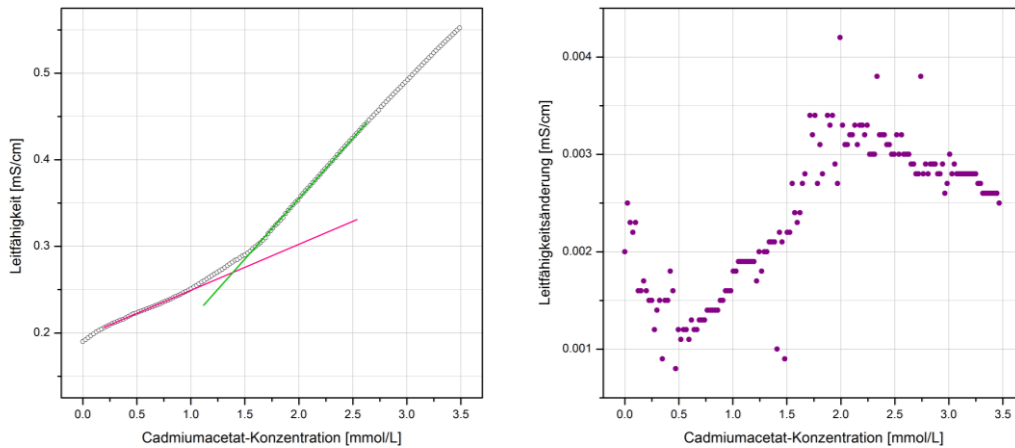


Abbildung A-62: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Cadmiumacetat zu einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung.

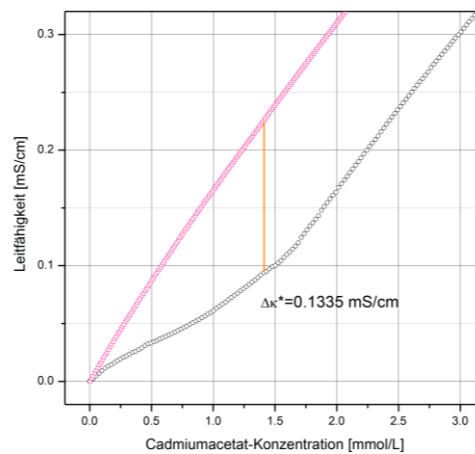


Abbildung A-63: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung mit Cadmiumacetat.

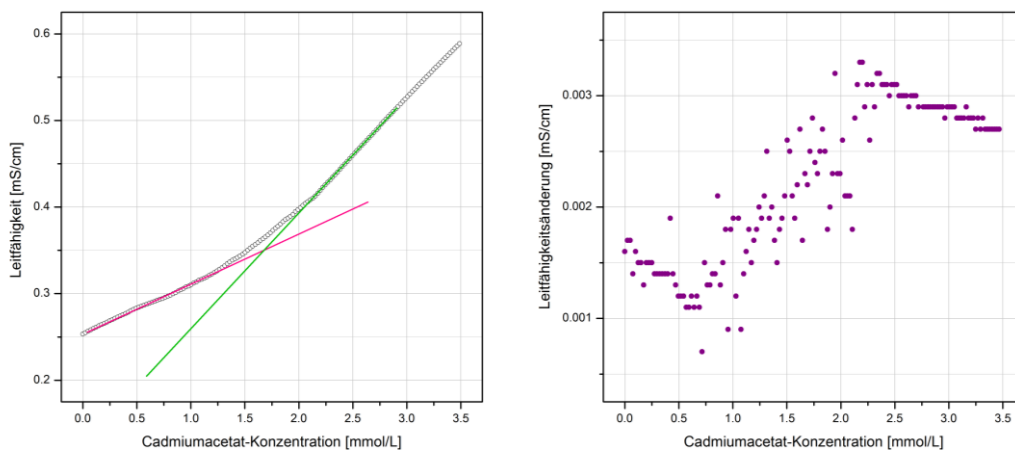


Abbildung A-64: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Cadmiumacetat zu einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung.

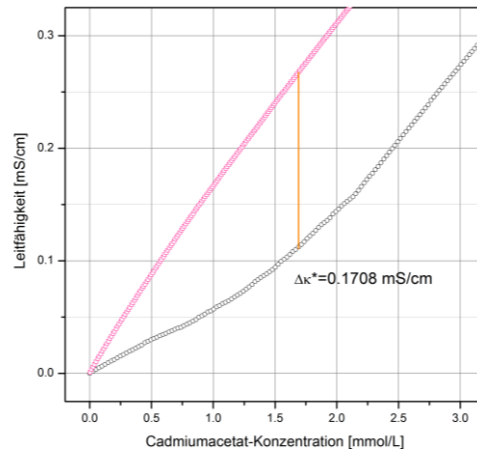


Abbildung A-65: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginate-Lösung mit Cadmiumacetat.

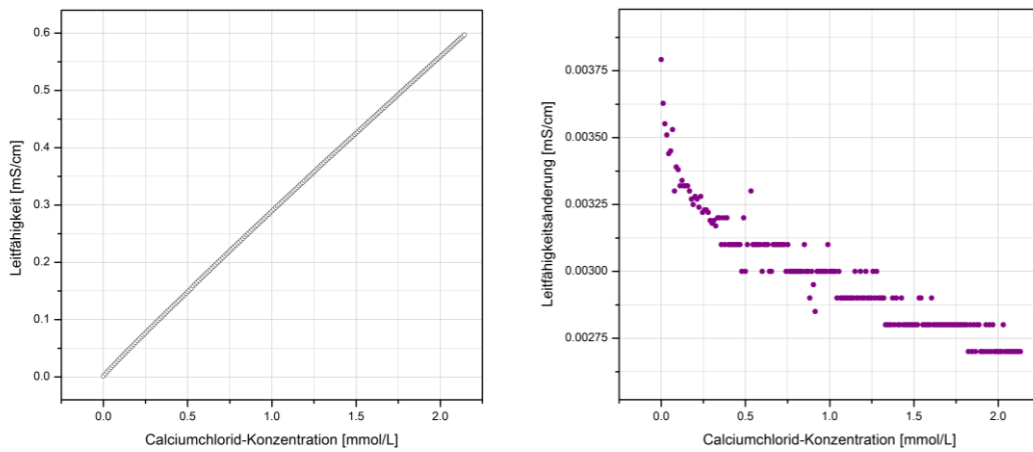


Abbildung A-66: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Calciumchlorid zu Wasser.

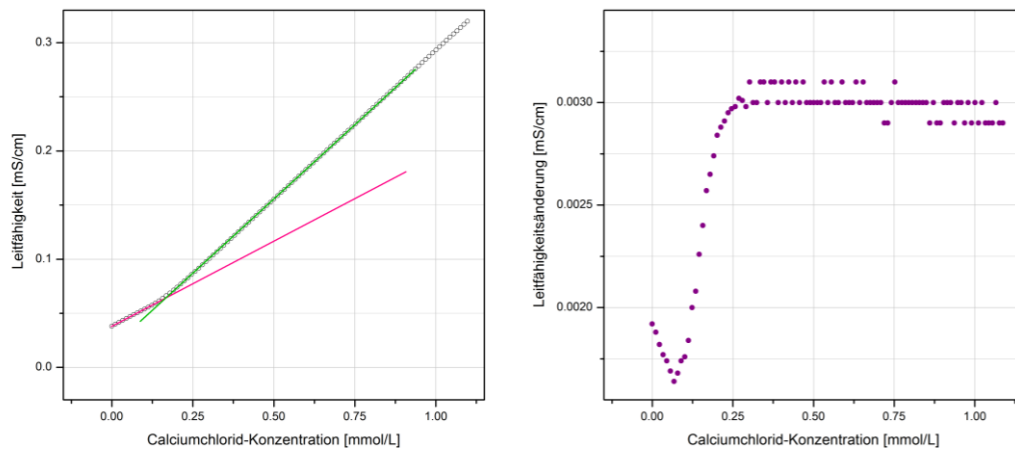


Abbildung A-67: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Calciumchlorid zu einer 0.125 mg/mL Alginate-Lösung.

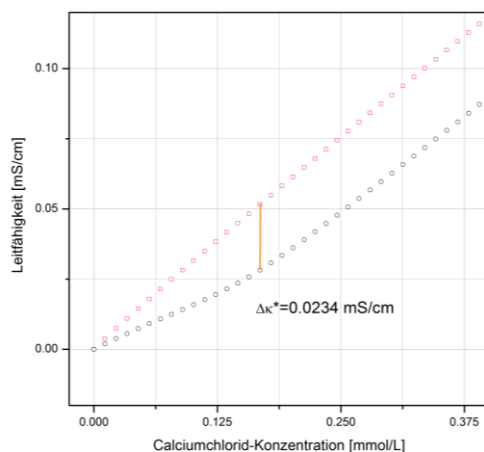


Abbildung A-68: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.125 mg/mL Alginat-Lösung mit Calciumchlorid.

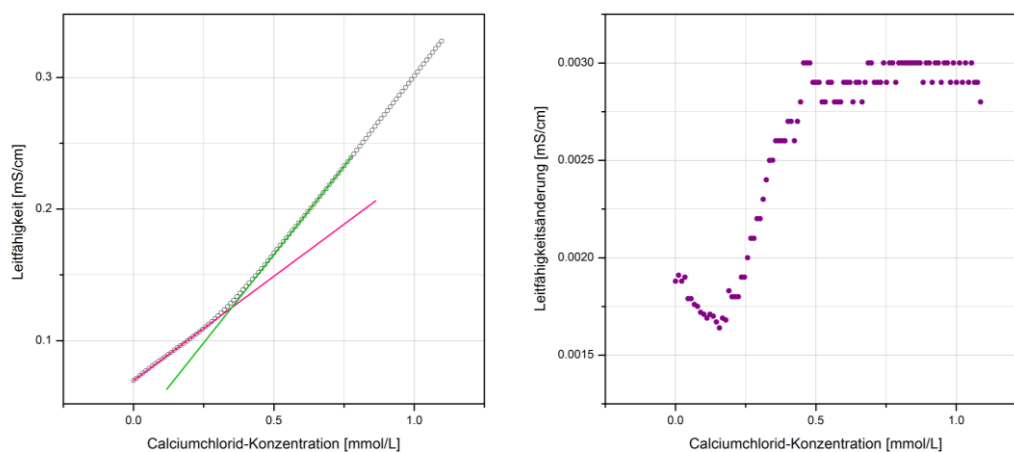


Abbildung A-69: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Calciumchlorid zu einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung.

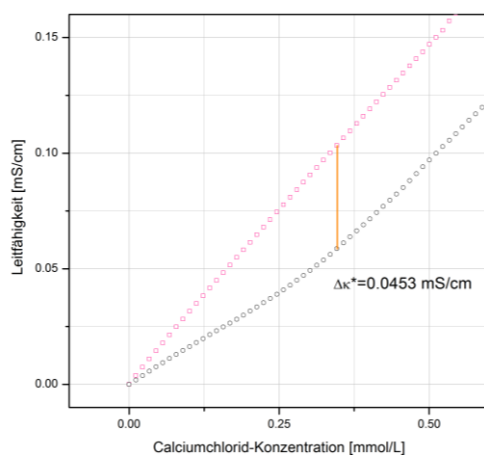


Abbildung A-70: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung mit Calciumchlorid.

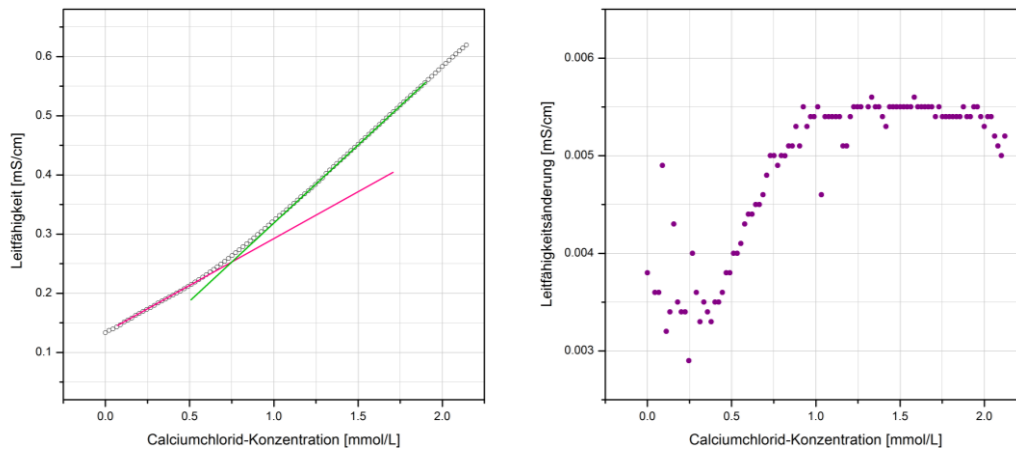


Abbildung A-71: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Calciumchlorid zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

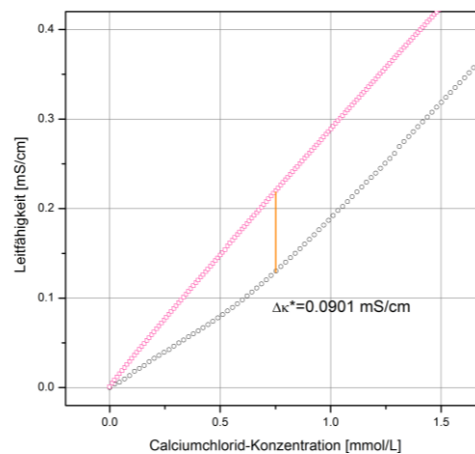


Abbildung A-72: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Calciumchlorid.

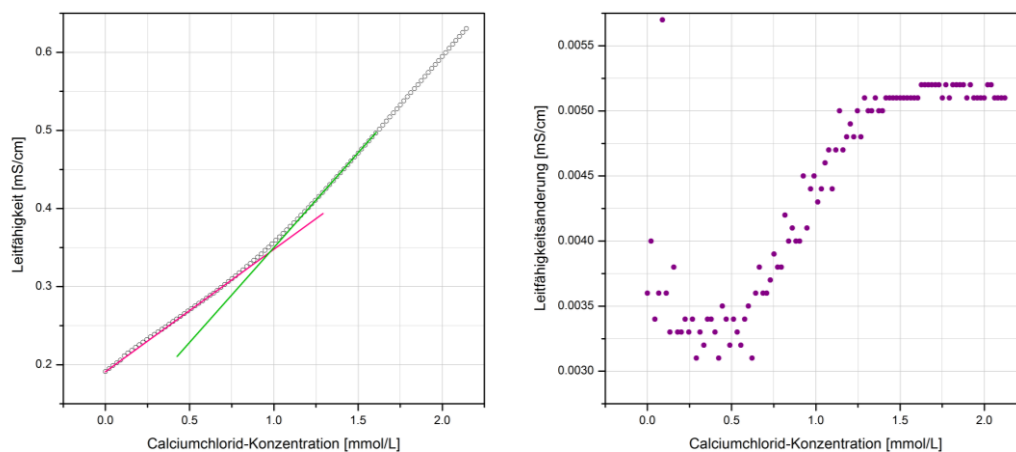


Abbildung A-73: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Calciumchlorid zu einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung.

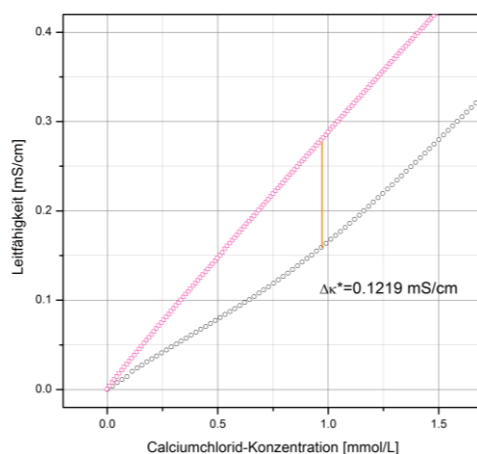


Abbildung A-74: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung mit Calciumchlorid.

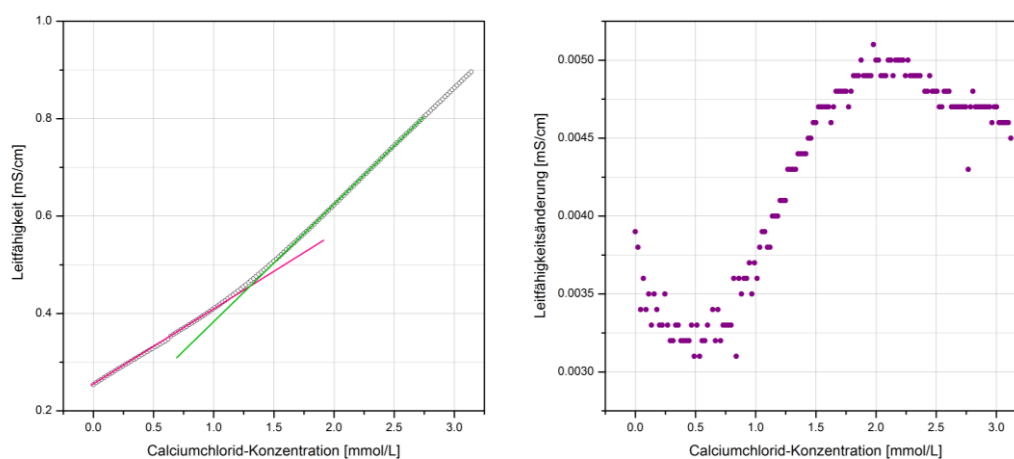


Abbildung A-75: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Calciumchlorid zu einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung.

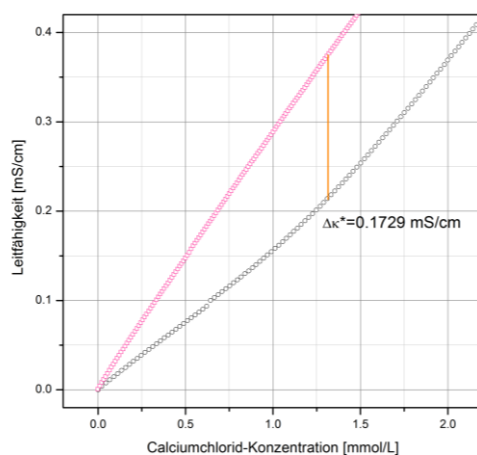


Abbildung A-76: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Calciumchlorid.

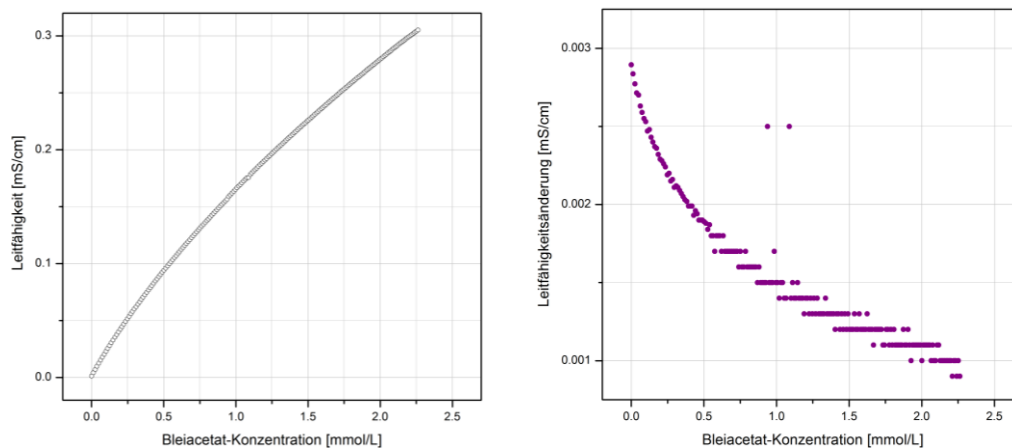


Abbildung A-77: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bleiacetat zu Wasser.

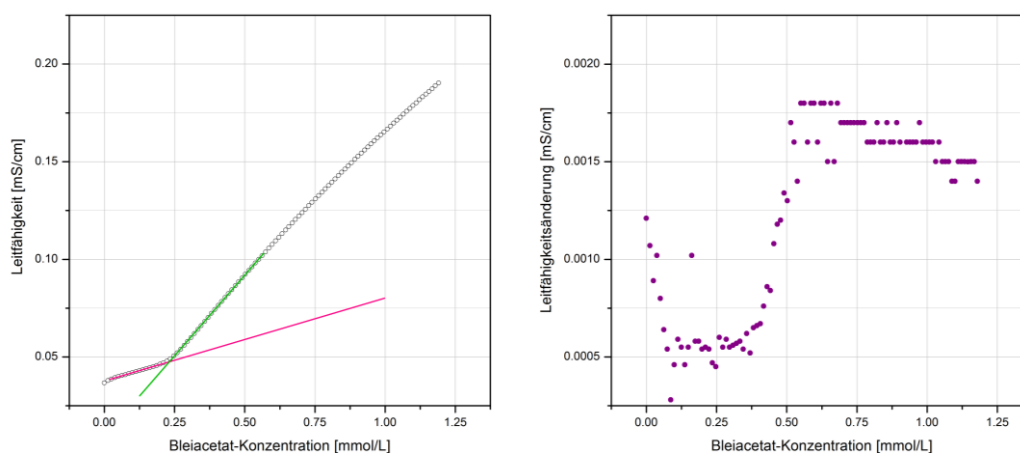


Abbildung A-78: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bleiacetat zu einer 0.125 mg/mL Alginate-Lösung.

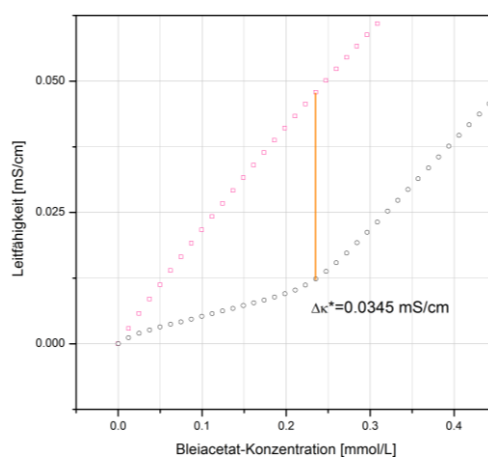


Abbildung A-79: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.125 mg/mL Alginate-Lösung mit Bleiacetat.

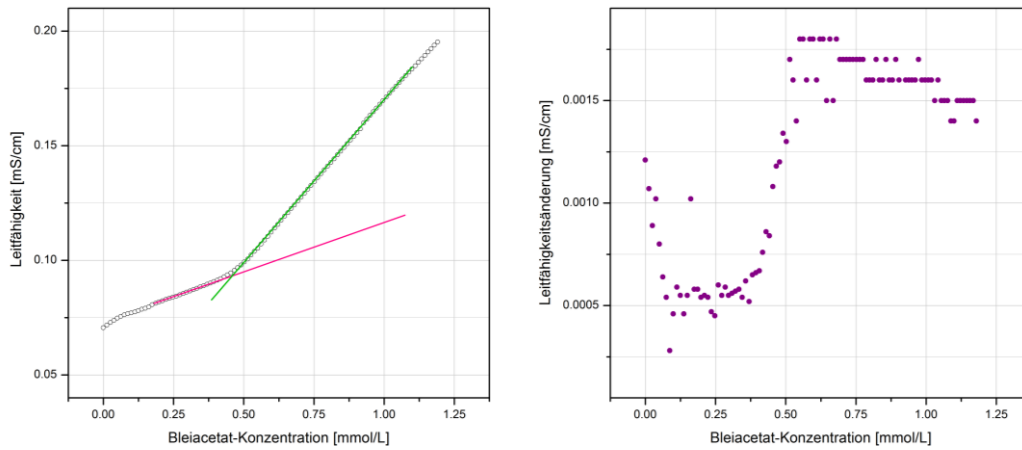


Abbildung A-80: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bleiacetat zu einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung.

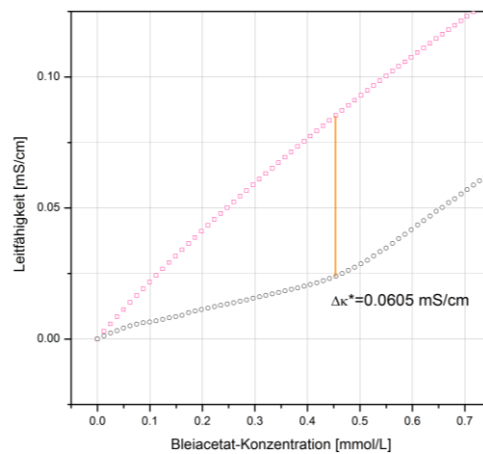


Abbildung A-81: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung mit Bleiacetat.

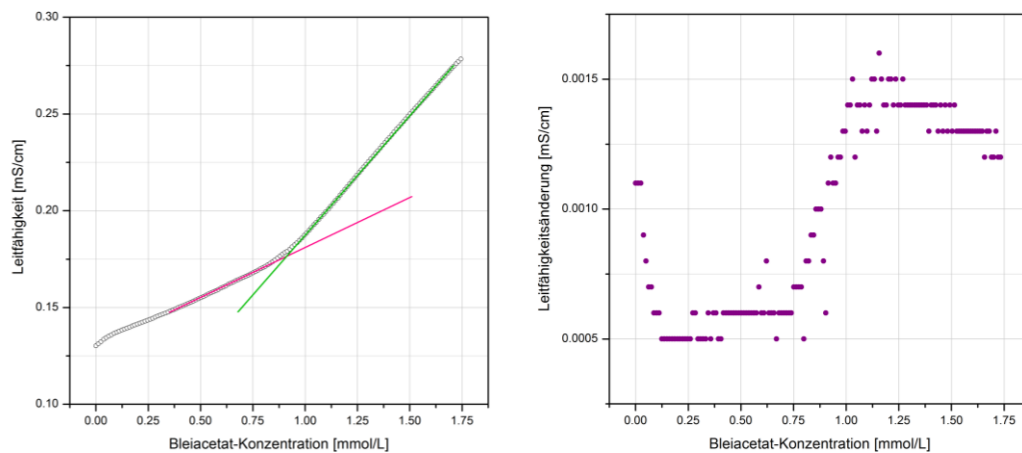


Abbildung A-82: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bleiacetat zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

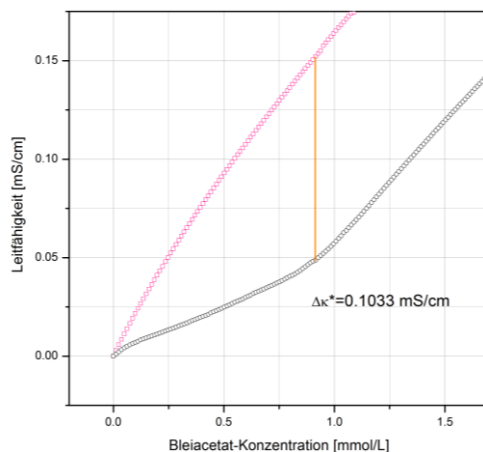


Abbildung A-83: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Bleiacetat.

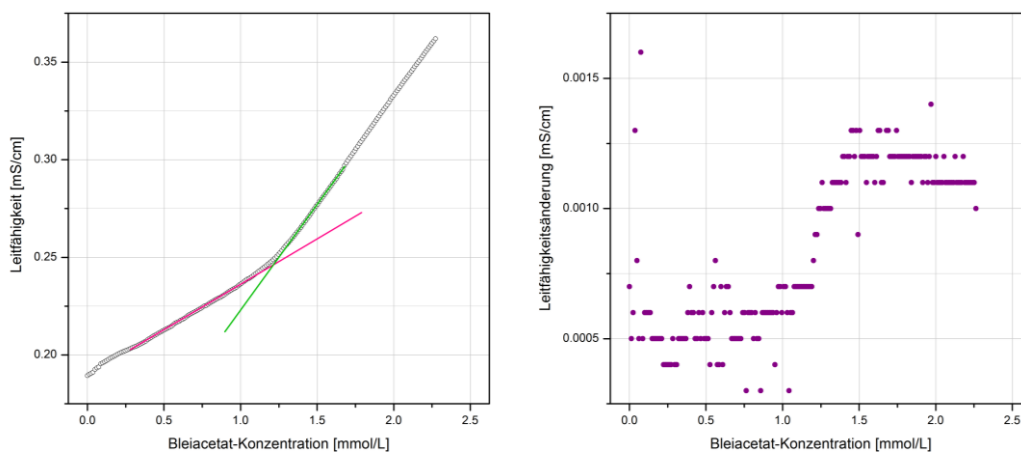


Abbildung A-84: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bleiacetat zu einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung.

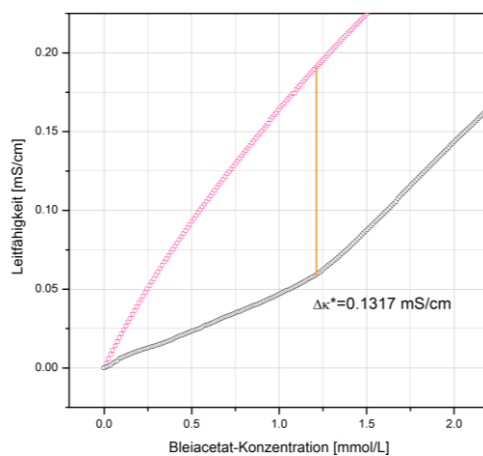


Abbildung A-85: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung mit Bleiacetat.

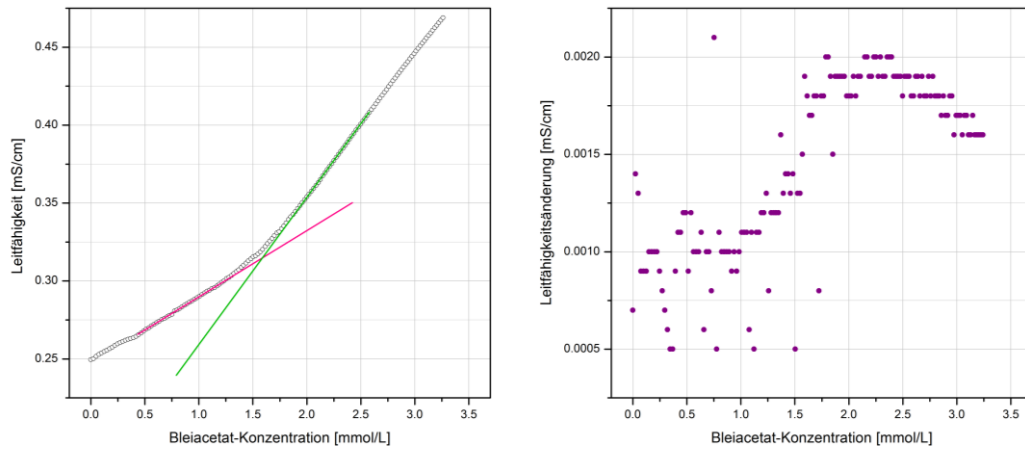


Abbildung A-86: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bleiacetat zu einer 1.0 mg/mL Alginate-Lösung.

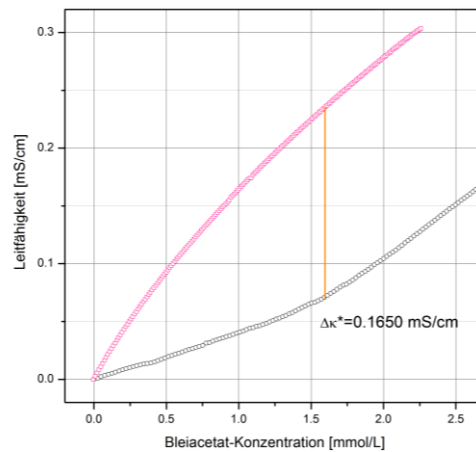


Abbildung A-87: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginate-Lösung mit Bleiacetat.

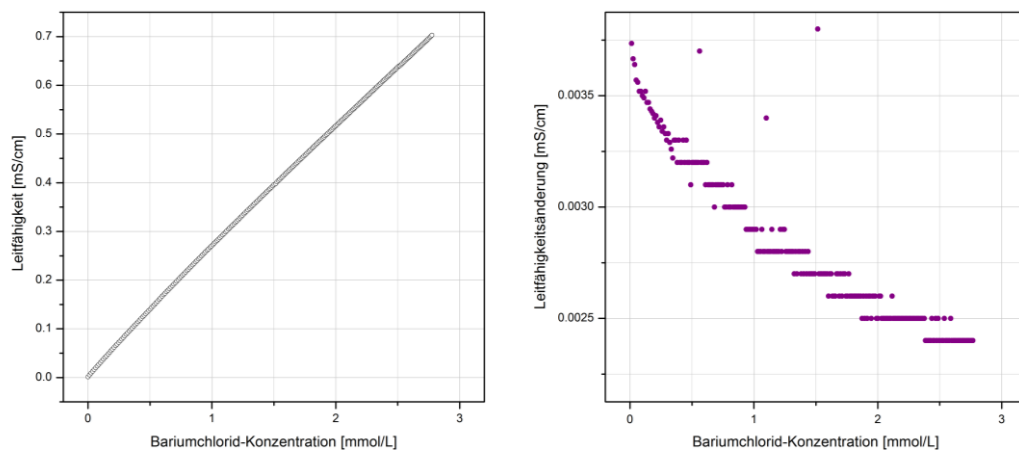


Abbildung A-88: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bariumchlorid zu Wasser.

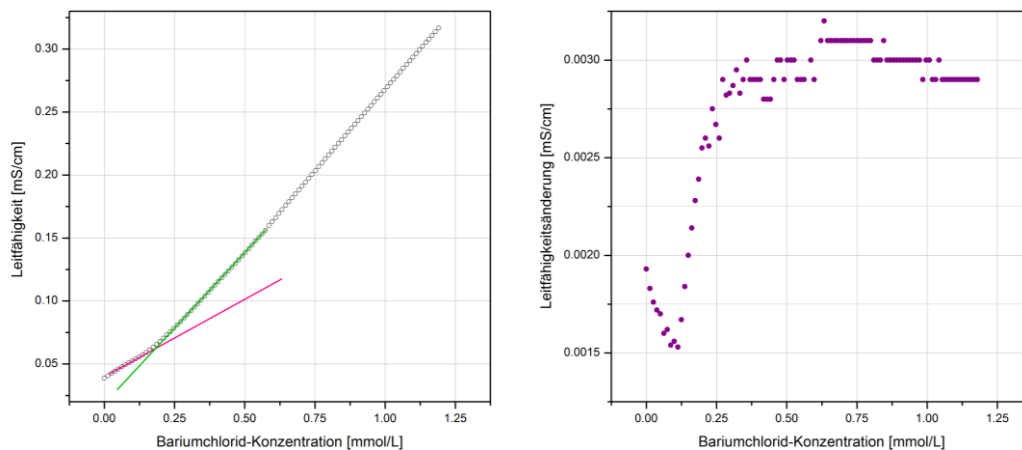


Abbildung A-89: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bariumchlorid zu einer 0.125 mg/mL Alginat-Lösung.

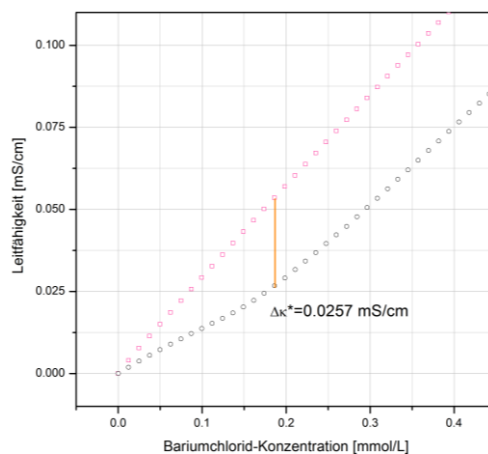


Abbildung A-90: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.125 mg/mL Alginat-Lösung mit Bariumchlorid.

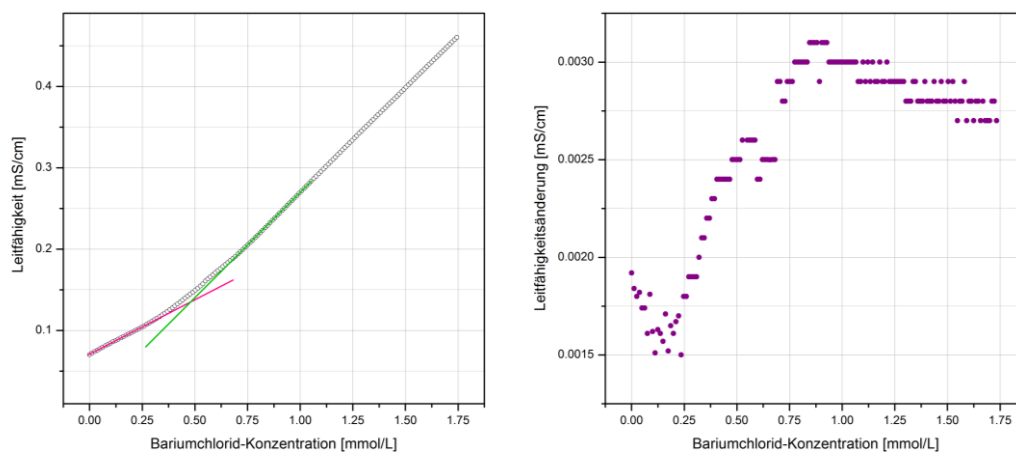


Abbildung A-91: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bariumchlorid zu einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung.

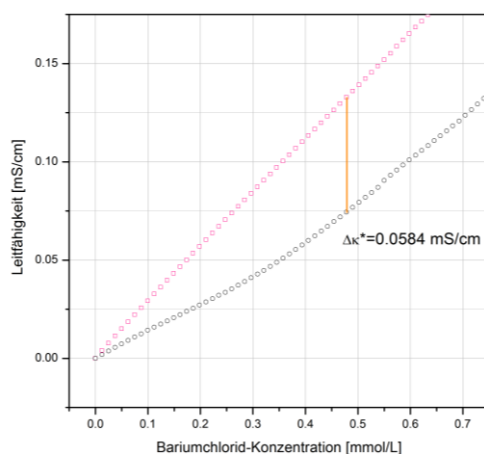


Abbildung A-92: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung mit Bariumchlorid.

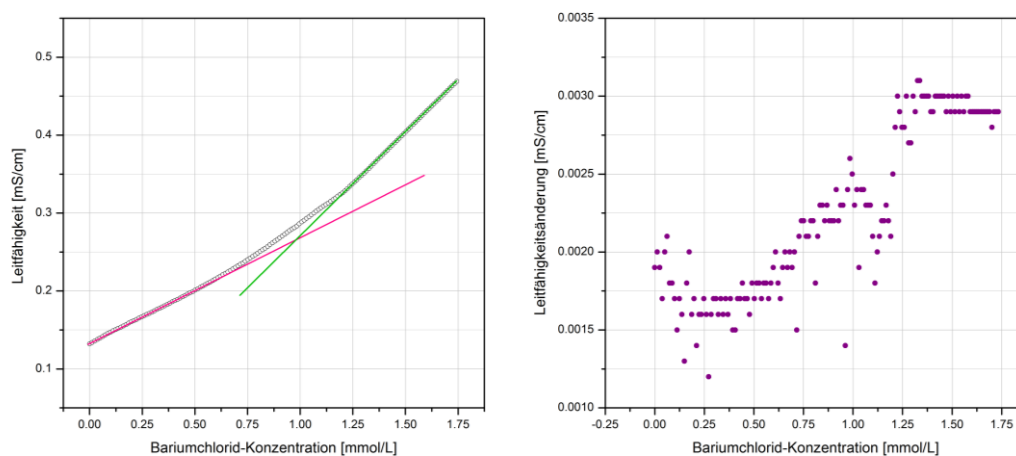


Abbildung A-93: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bariumchlorid zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

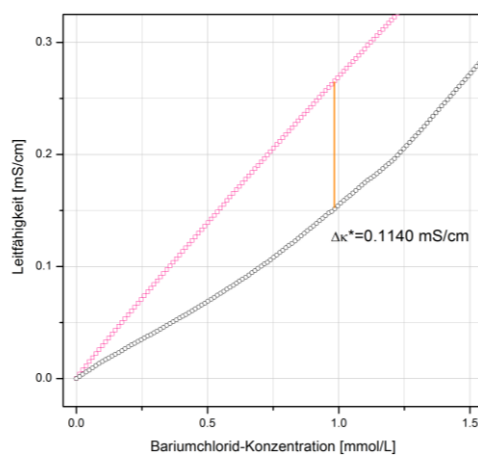


Abbildung A-94: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Bariumchlorid.

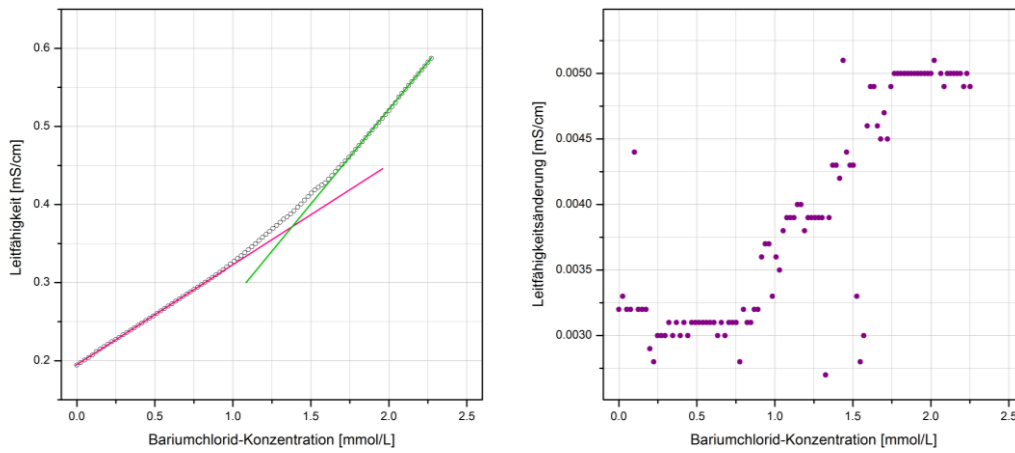


Abbildung A-95: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bariumchlorid zu einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung.

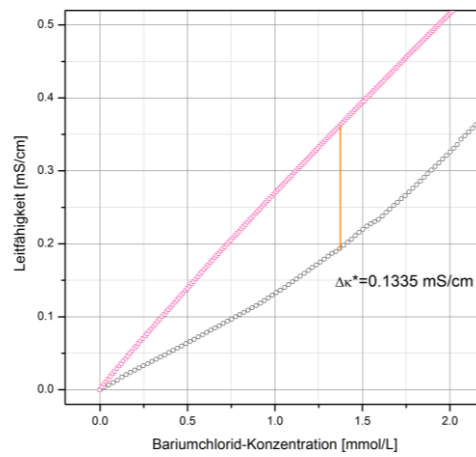


Abbildung A-96: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung mit Bariumchlorid.

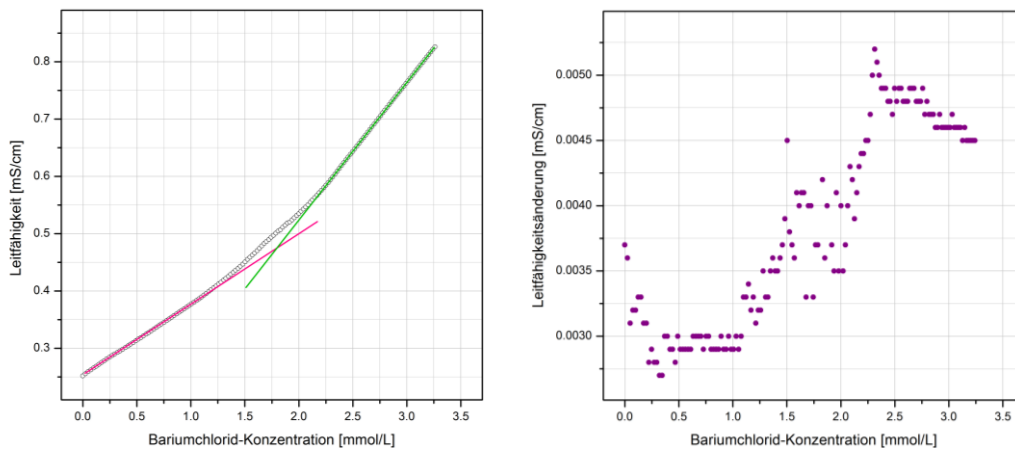


Abbildung A-97: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Bariumchlorid zu einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung.

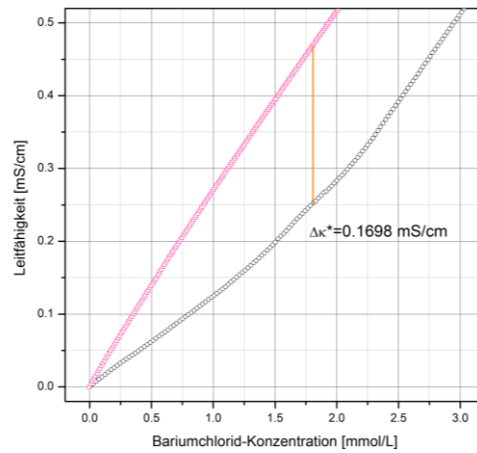


Abbildung A-98: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Bariumchlorid.

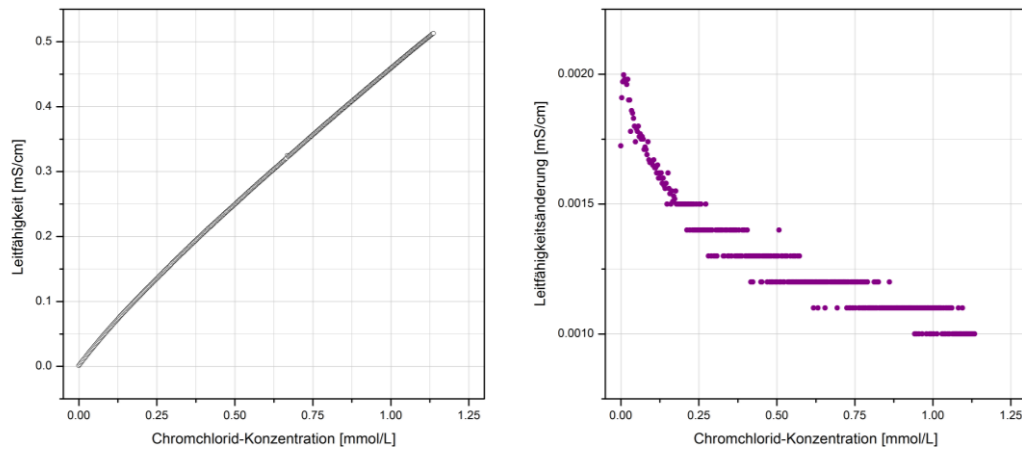


Abbildung A-99: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Chromchlorid zu Wasser.

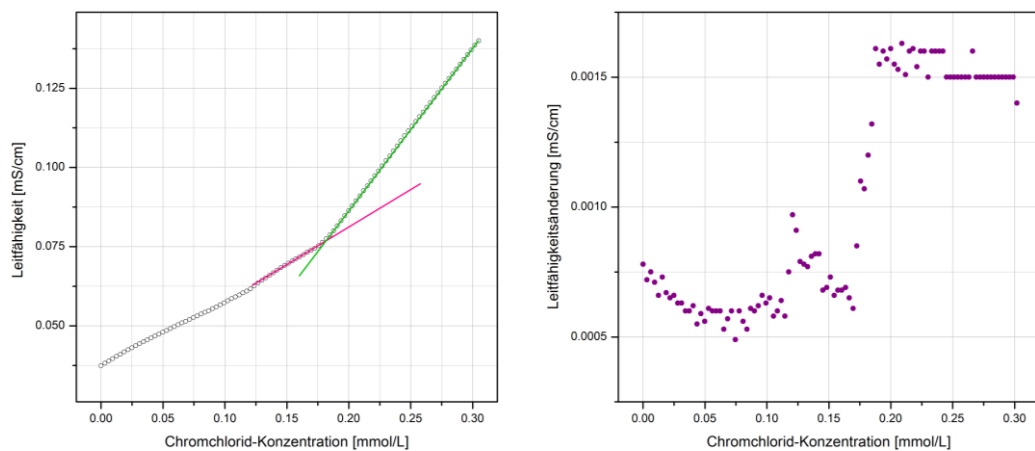


Abbildung A-100: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Chromchlorid zu einer 0.125 mg/mL Alginat-Lösung.

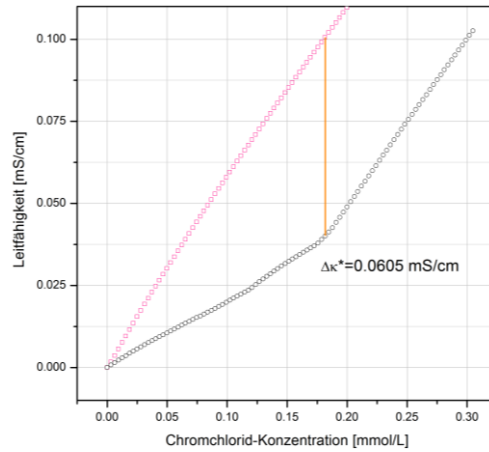


Abbildung A-101: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.125 mg/mL Alginat-Lösung mit Chromchlorid.

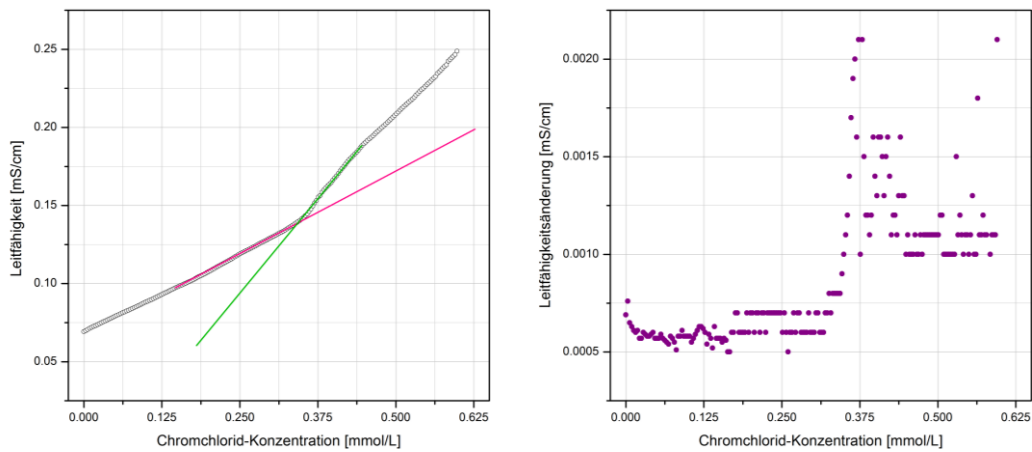


Abbildung A-102: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Chromchlorid zu einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung.

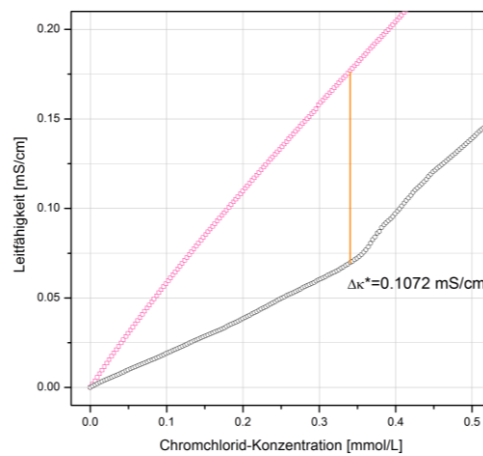


Abbildung A-103: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.25 mg/mL Alginat-Lösung mit Chromchlorid.

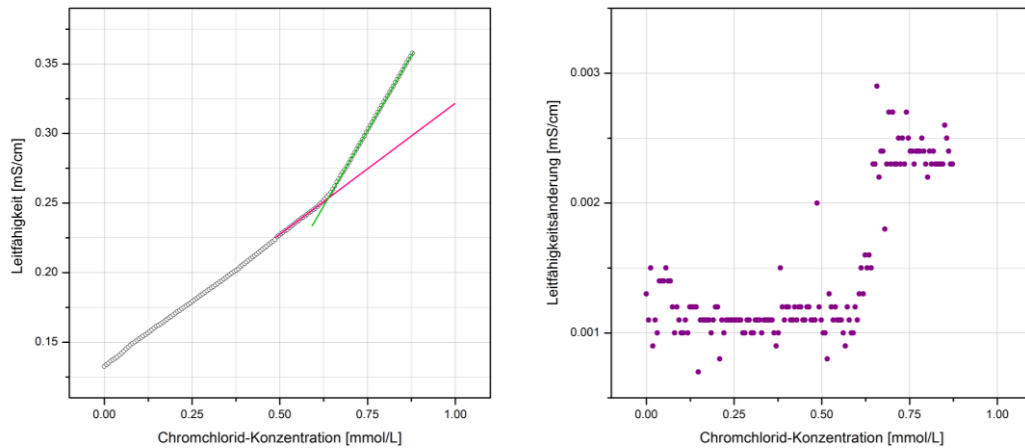


Abbildung A-104: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Chromchlorid zu einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung.

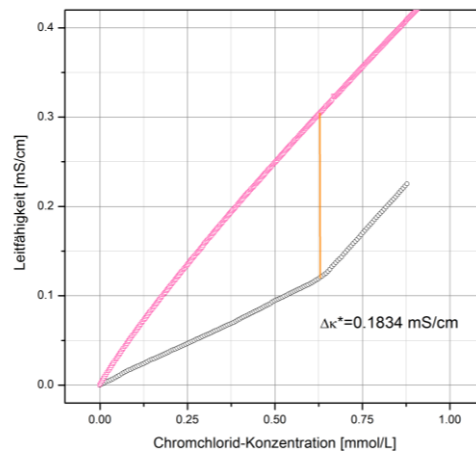


Abbildung A-105: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.5 mg/mL Alginat-Lösung mit Chromchlorid.

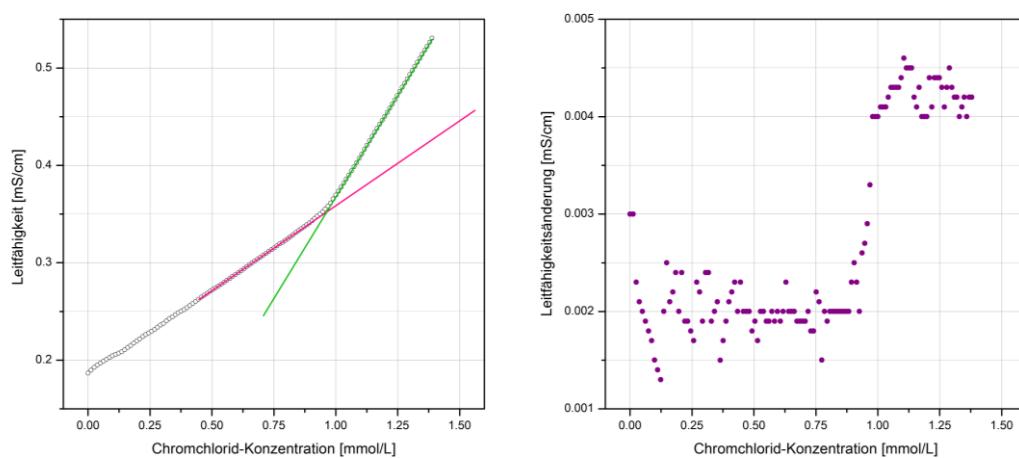


Abbildung A-106: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Chromchlorid zu einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung.

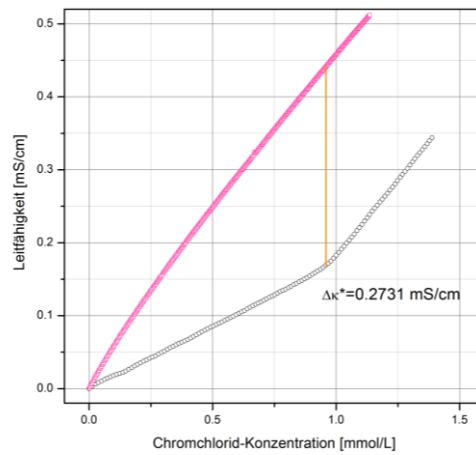


Abbildung A-107: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 0.75 mg/mL Alginat-Lösung mit Chromchlorid.

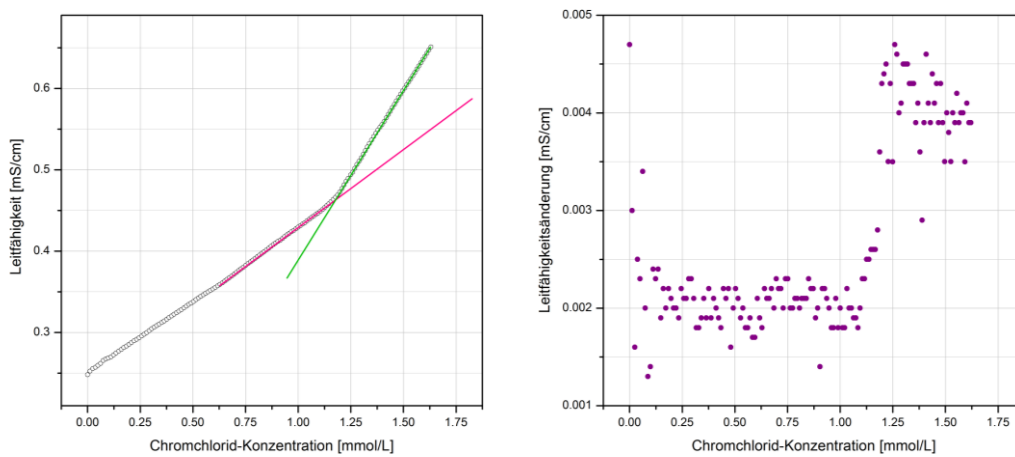


Abbildung A-108: Darstellung der konduktometrischen Daten der titrimetrischen Zugabe von Chromchlorid zu einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung.

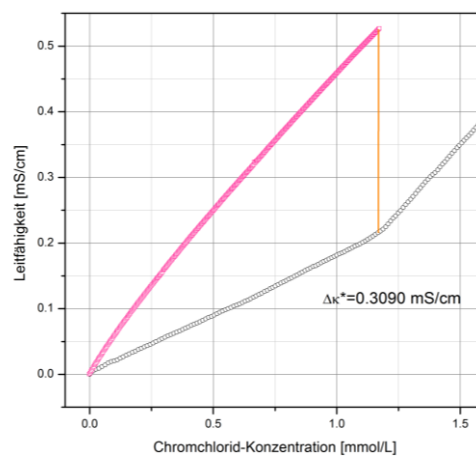


Abbildung A-109: Darstellung zur Bestimmung von $\Delta\kappa^*$ einer 1.0 mg/mL Alginat-Lösung mit Chromchlorid.

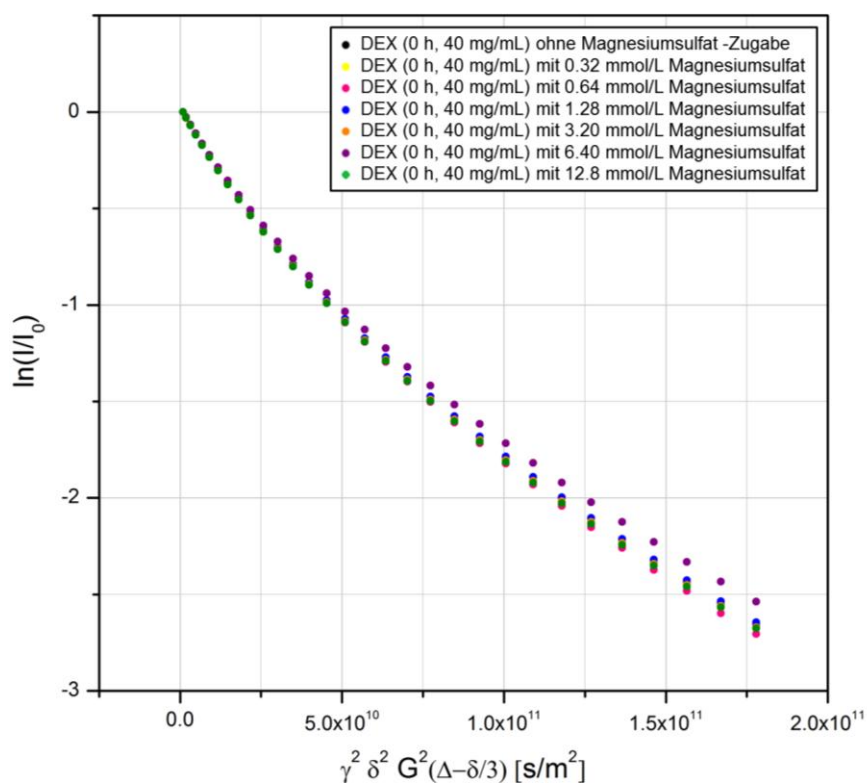


Abbildung A-110: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an DEX-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen MgSO_4 .

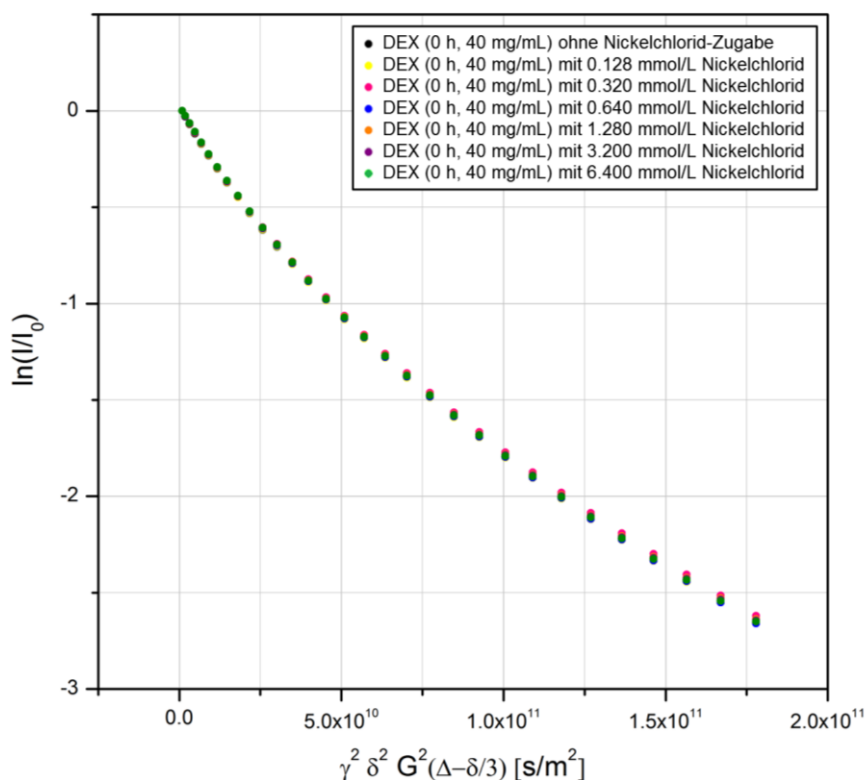


Abbildung A-111: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an DEX-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen NiCl_2 .

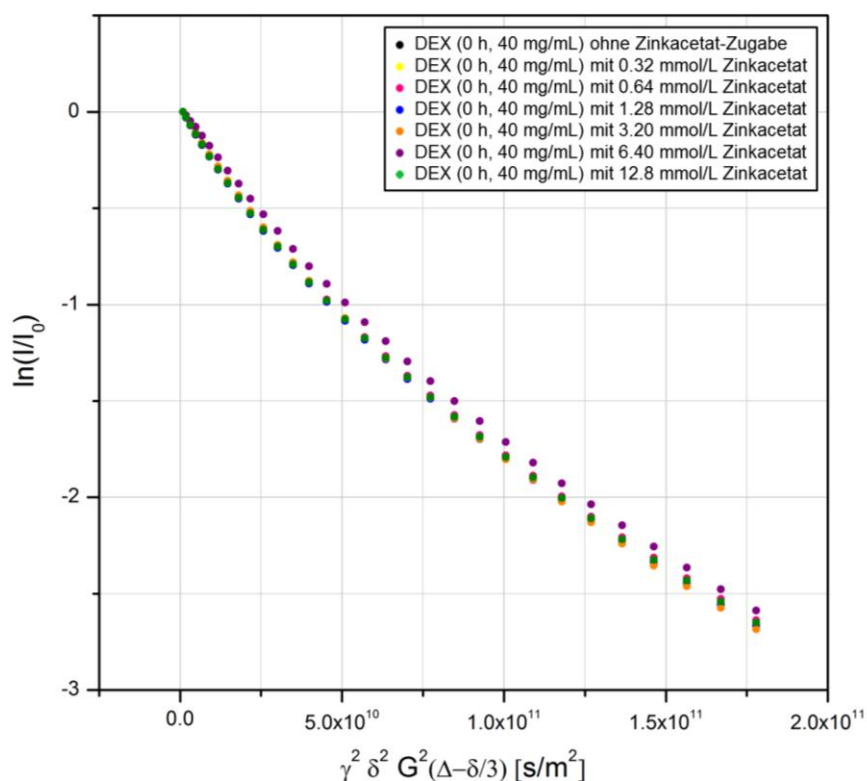


Abbildung A-112: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an DEX-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen ZnAc_2 .

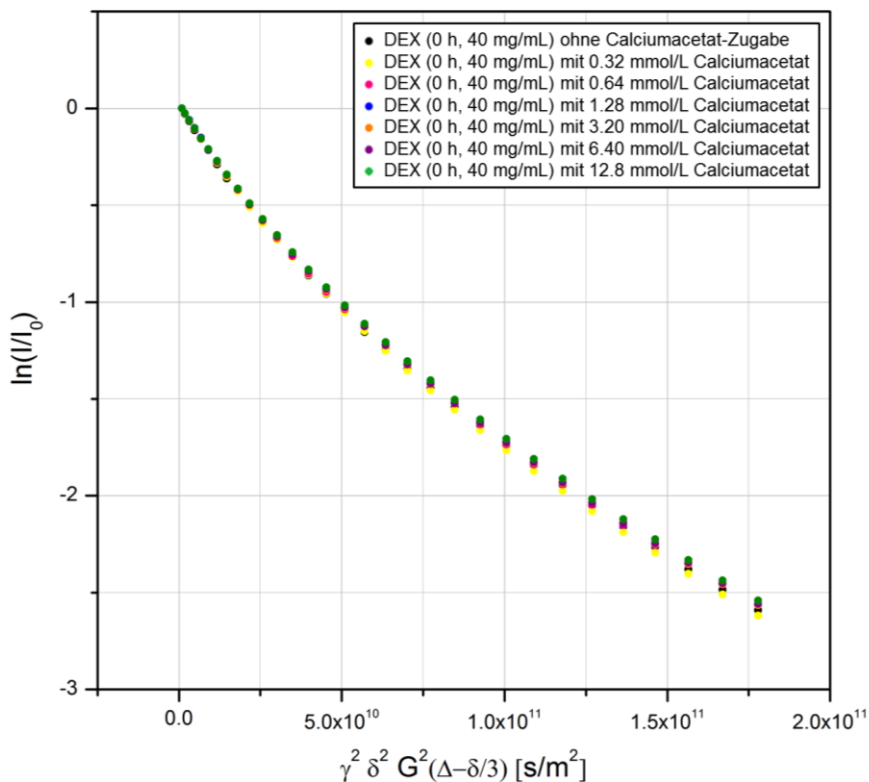


Abbildung A-113: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an DEX-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CaAc_2 .

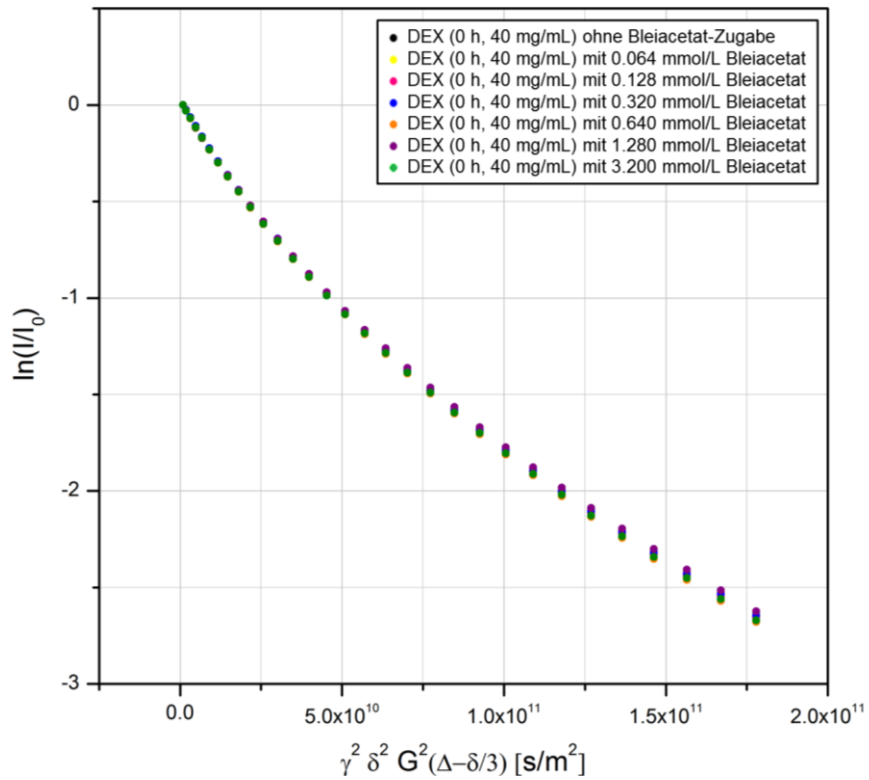


Abbildung A-114: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an DEX-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen PbAc_2 .

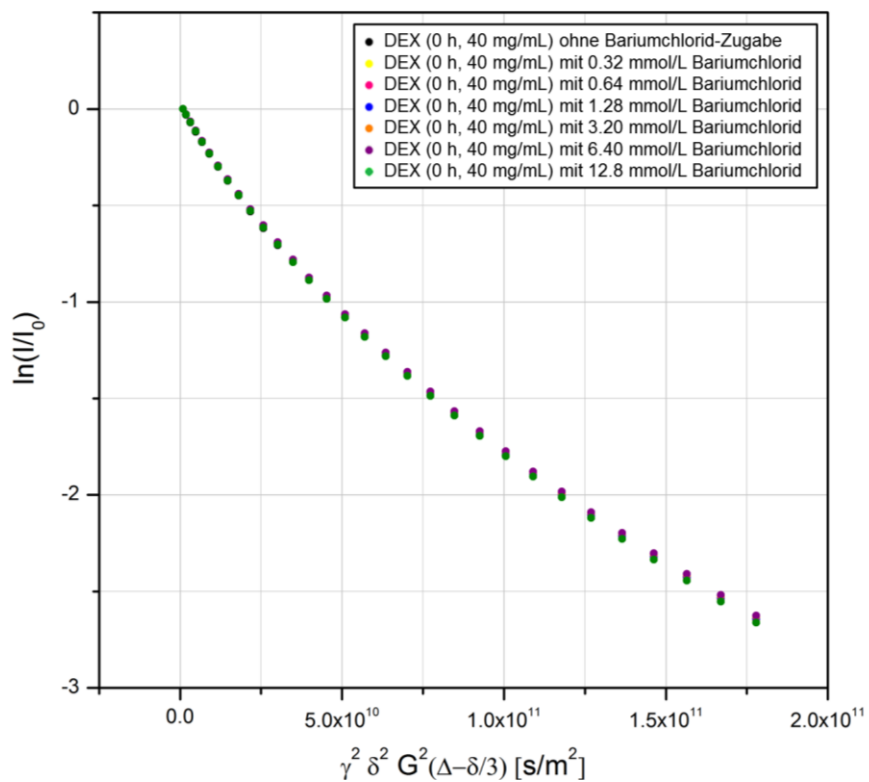


Abbildung A-115: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an DEX-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen BaCl_2 .

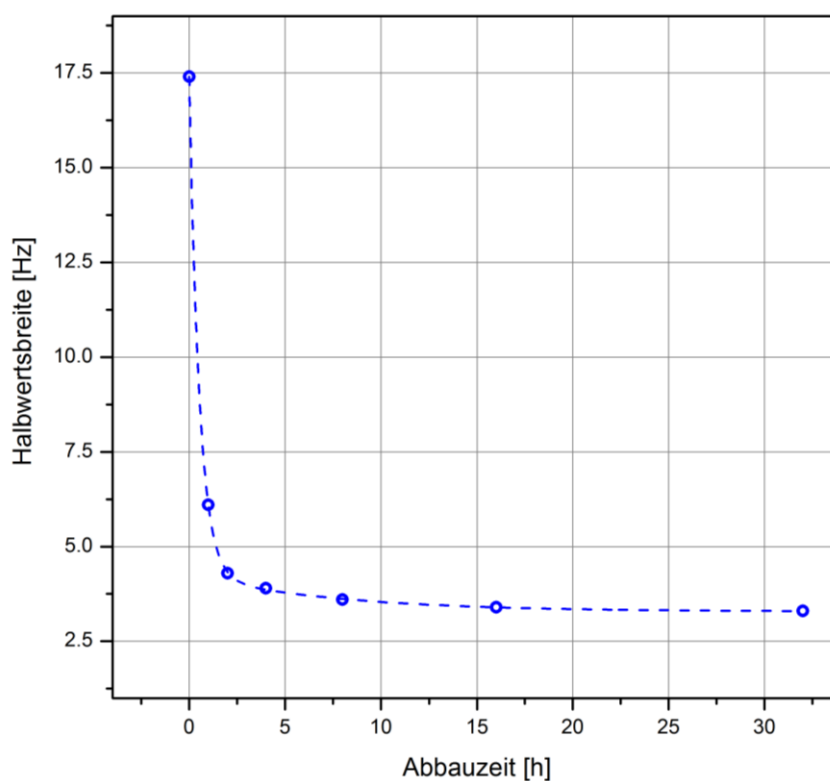


Abbildung A-116: Auftragung der Halbhöhenpeakbreiten unterschiedlich degradiert Hyaluronat-Proben in Abhängigkeit von der Abbaueitspanne.

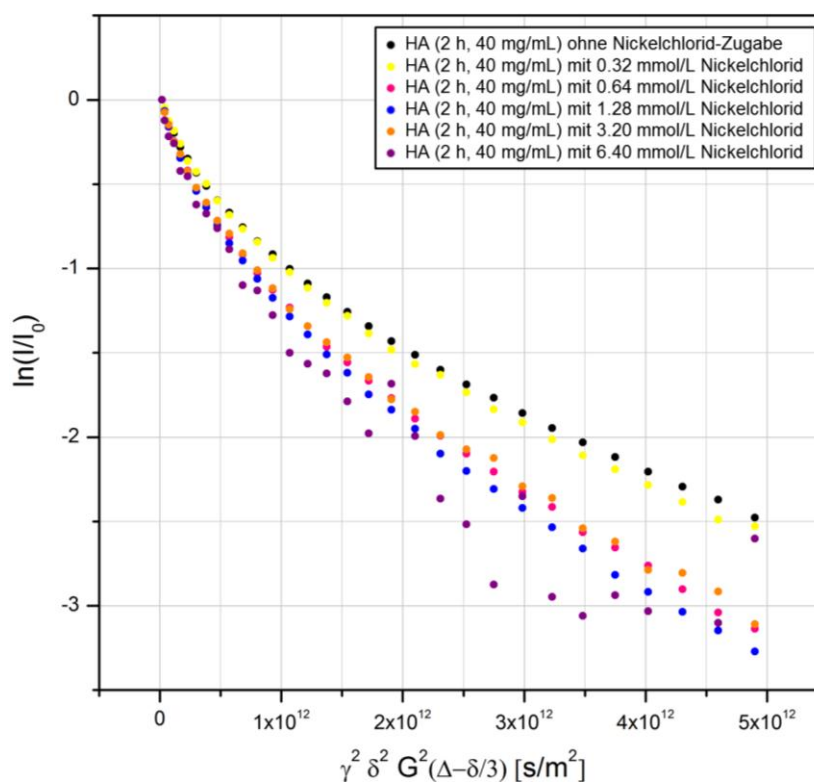


Abbildung A-117: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an HA-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen NiCl_2 .

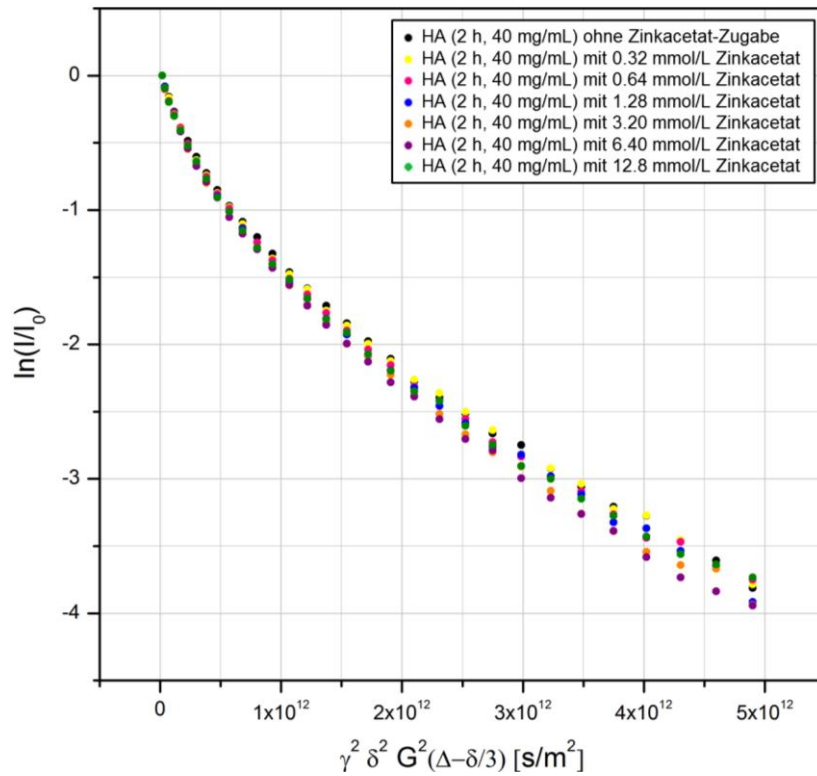


Abbildung A-118: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an HA-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen ZnAc_2 .

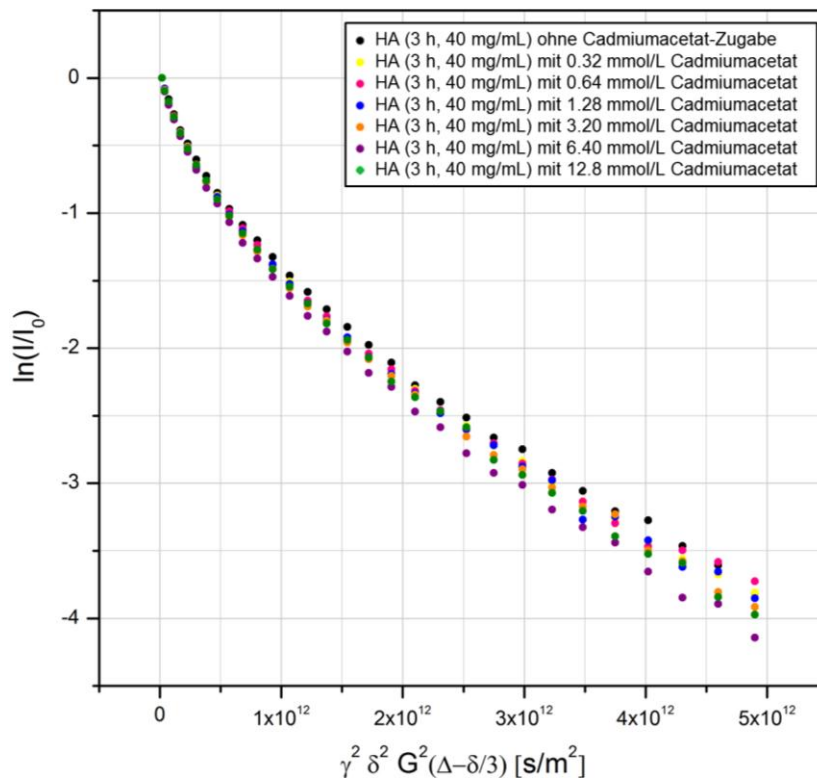


Abbildung A-119: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an HA-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CdAc_2 .

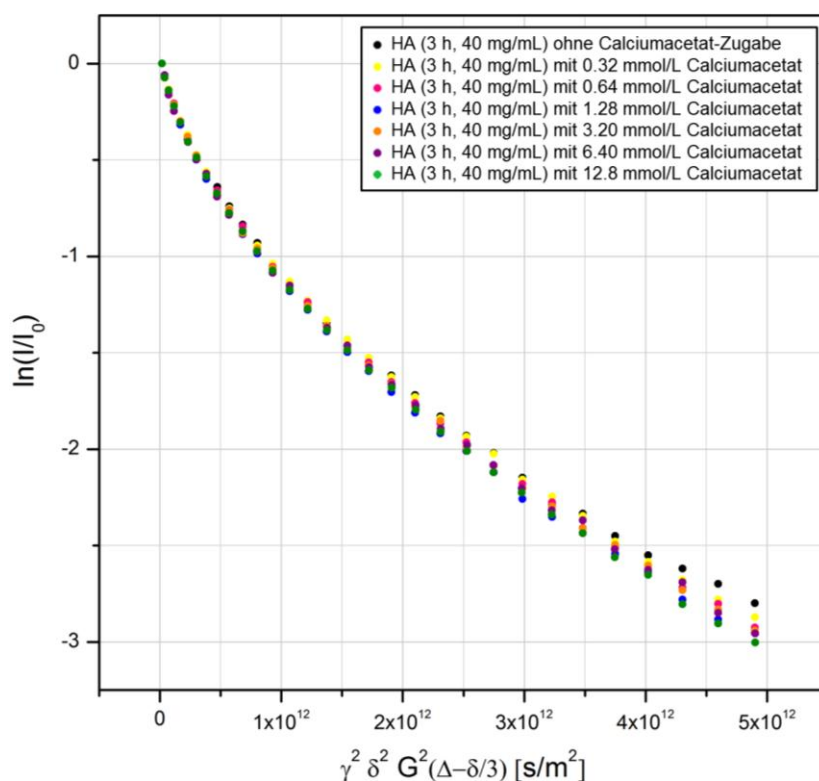


Abbildung A-120: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an HA-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CaAc_2 .

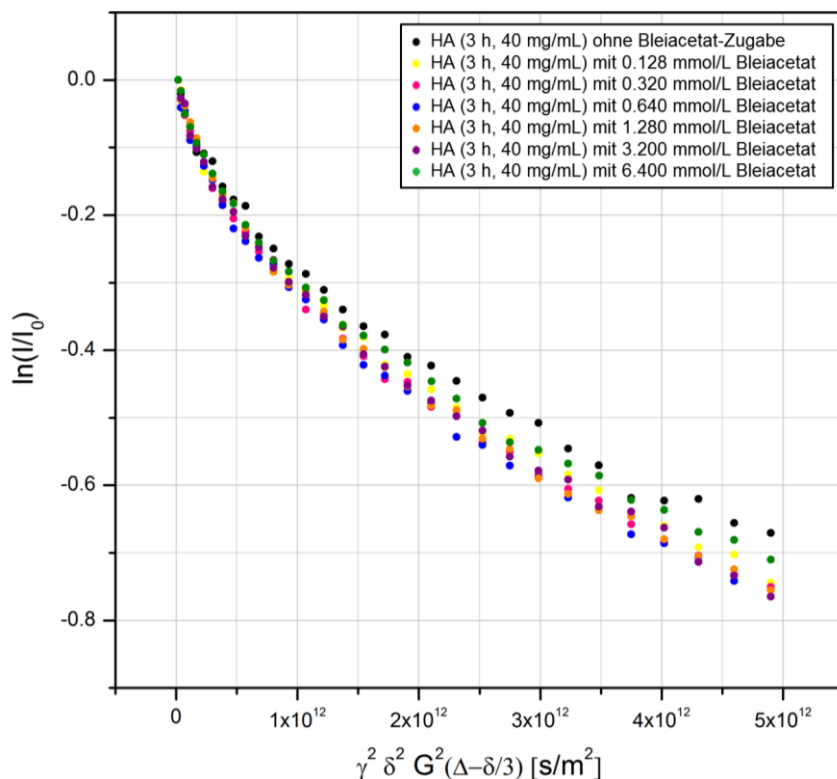


Abbildung A-121: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an HA-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen PbAc_2 .

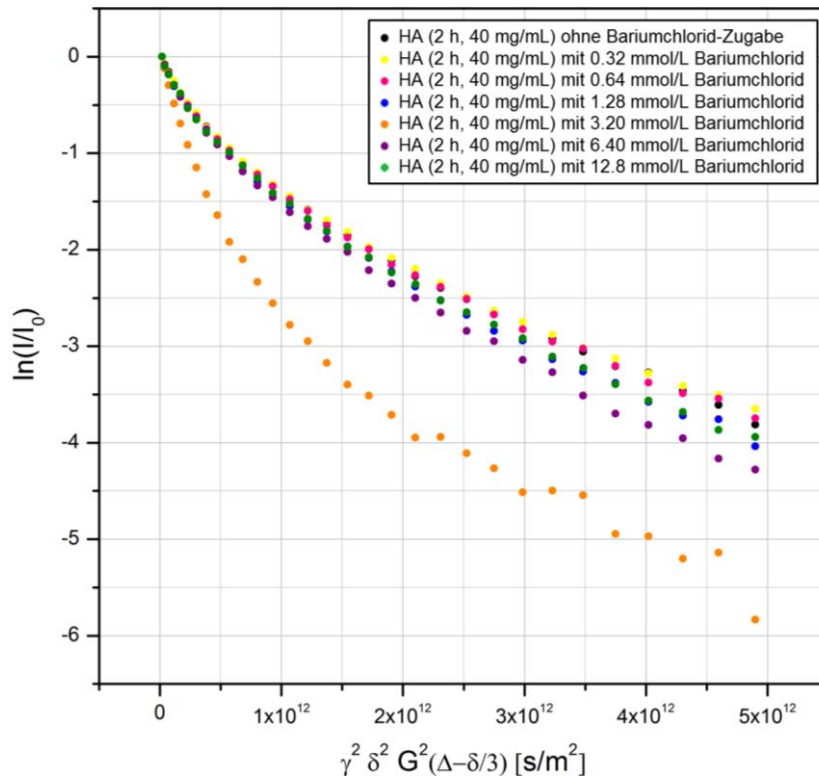


Abbildung A-122: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an HA-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen BaCl_2 .

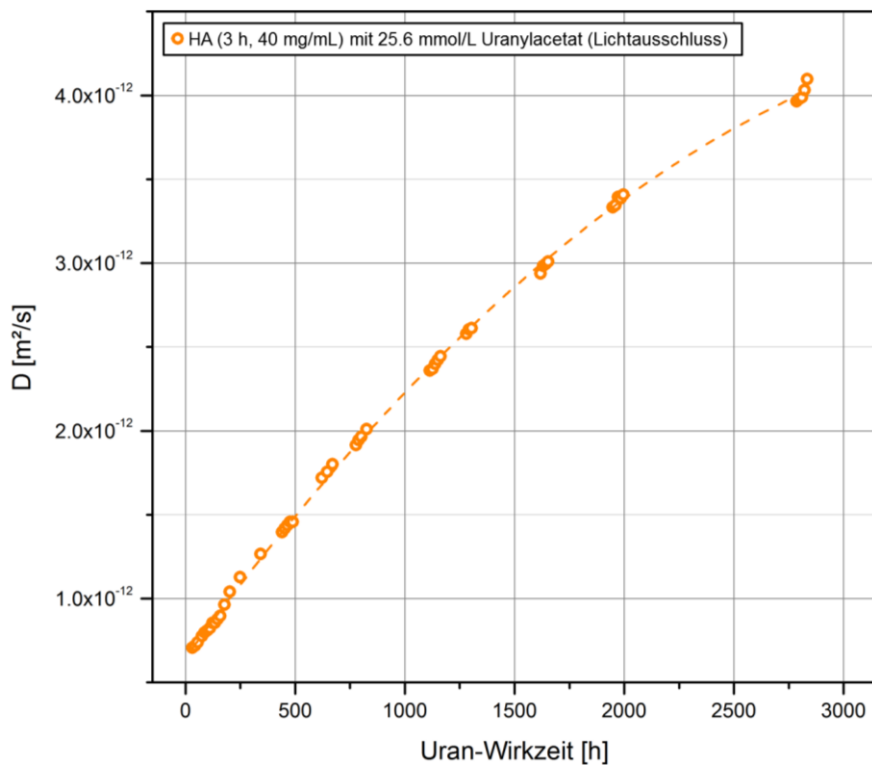


Abbildung A-123: Auftragung der mittleren Diffusionskoeffizienten einer Hyaluronat-Probe (40 mg/mL in D_2O) nach Zugabe von 25.6 mmol/L Uranylacetat in Abhängigkeit von der Uran-Wirkzeit.

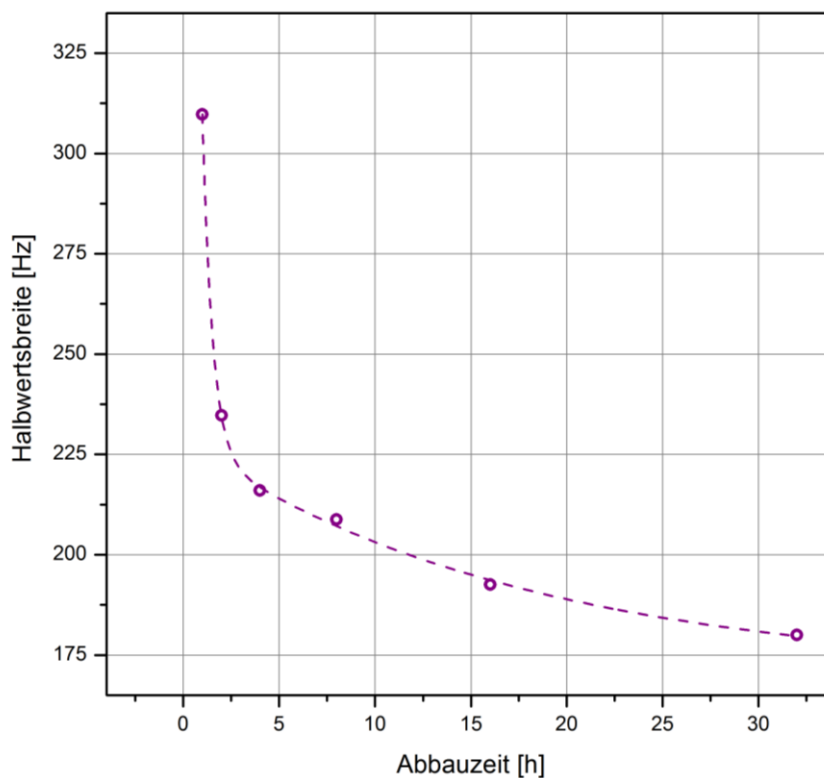


Abbildung A-124: Auftragung der Halbhöhenpeakbreiten unterschiedlich degradiert ALGat-Proben in Abhängigkeit von der Abbaueitspanne.

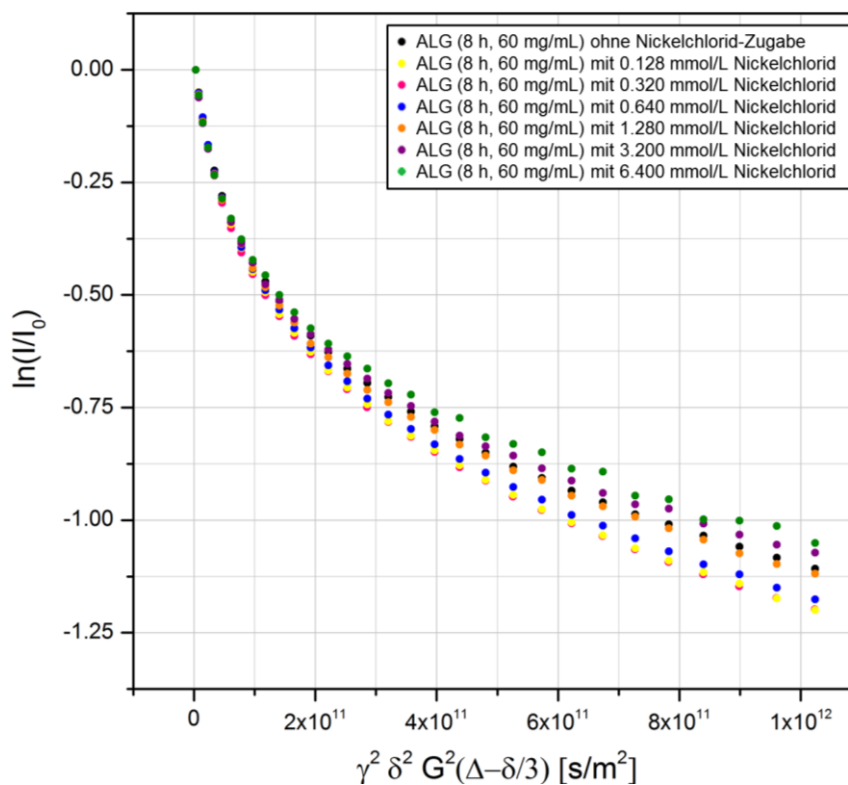


Abbildung A-125: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an ALG-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen NiCl₂.

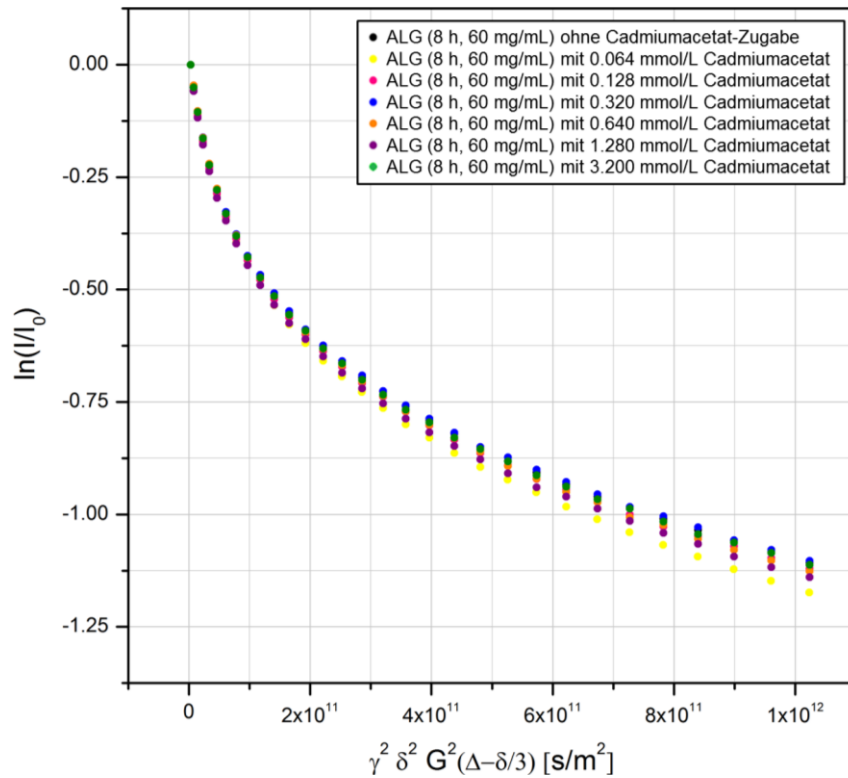


Abbildung A-126: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an ALG-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CdAc_2 .

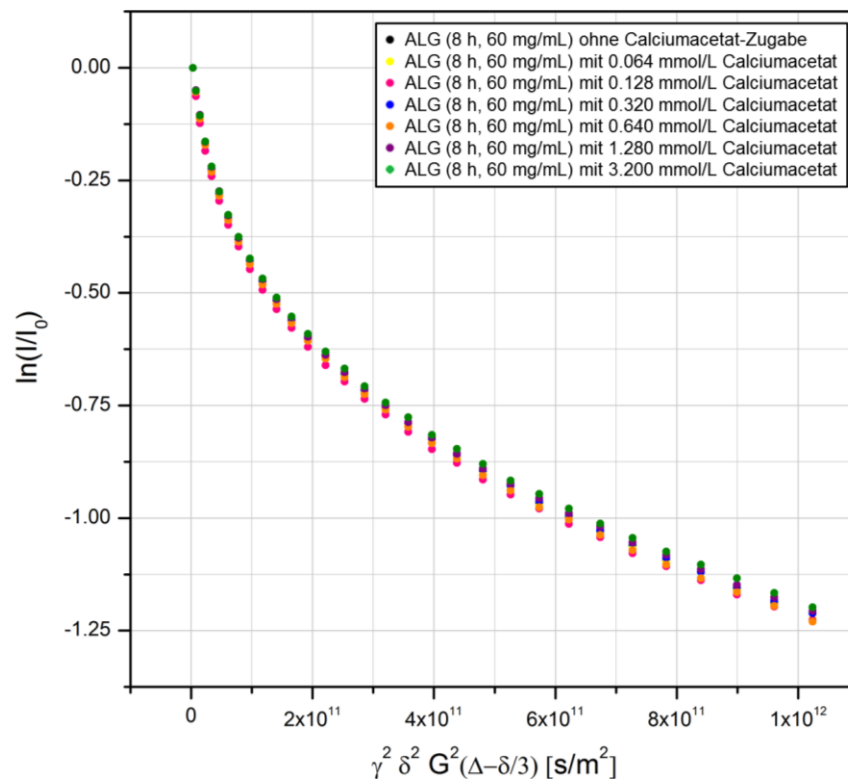


Abbildung A-127: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an ALG-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen CaAc_2 .

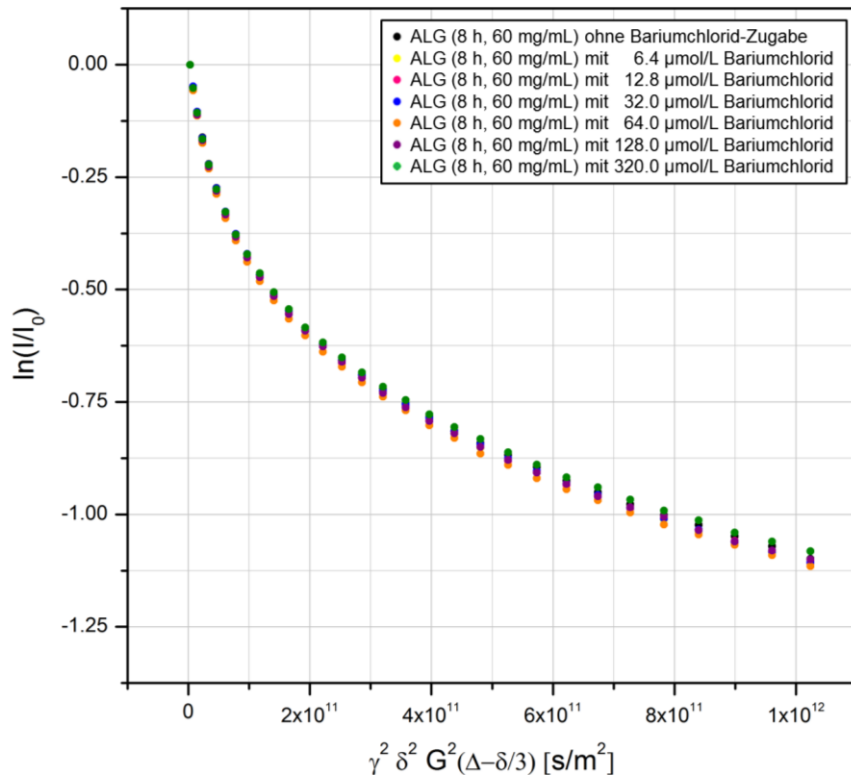


Abbildung A-128: Auftragung der Echozerfallsdaten der PFG-NMR-Untersuchungen an ALG-Lösungen in Gegenwart unterschiedlicher Mengen BaCl₂.

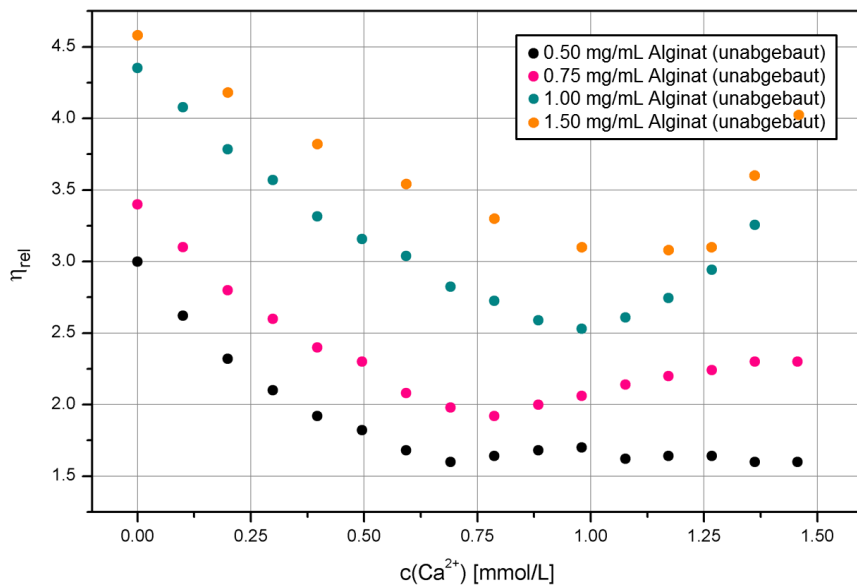


Abbildung A-129: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von CaAc₂.

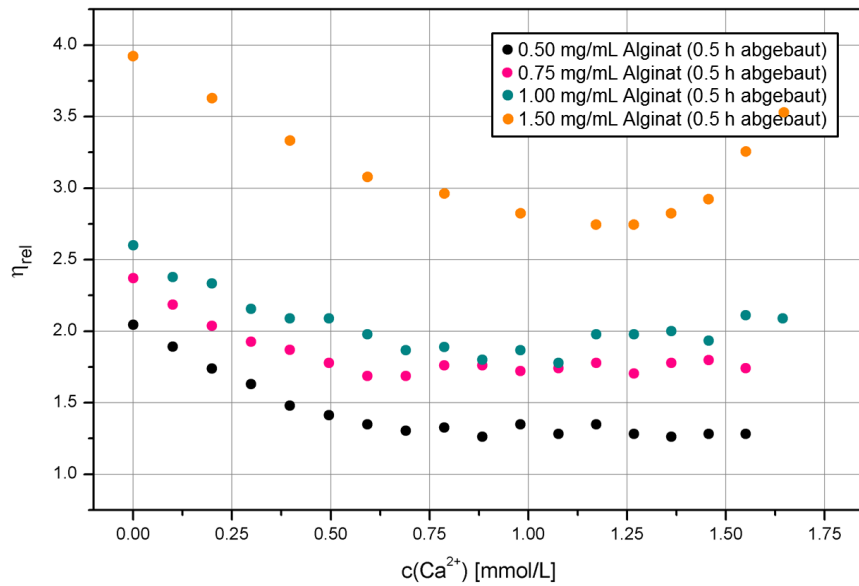


Abbildung A-130: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen 0.5 h abgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von CaAc_2 .

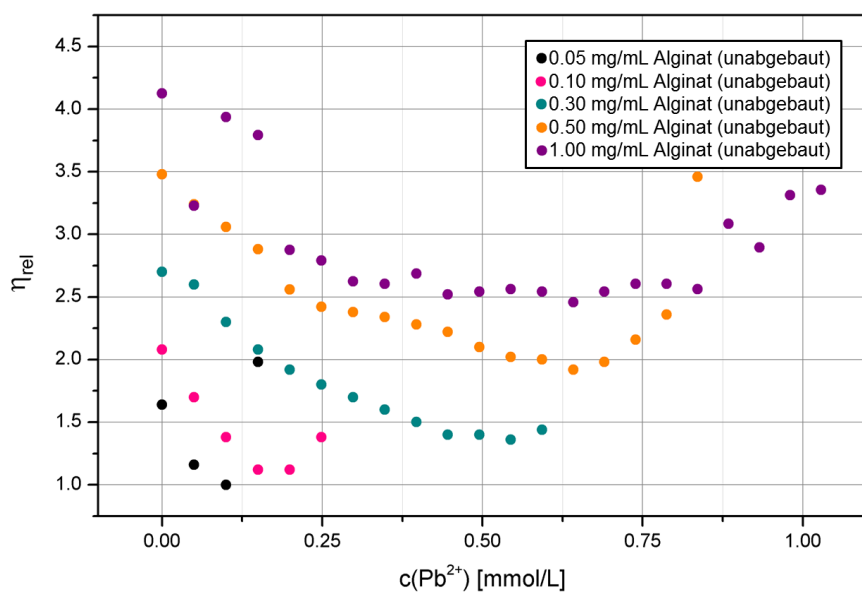


Abbildung A-131: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von PbAc_2 .

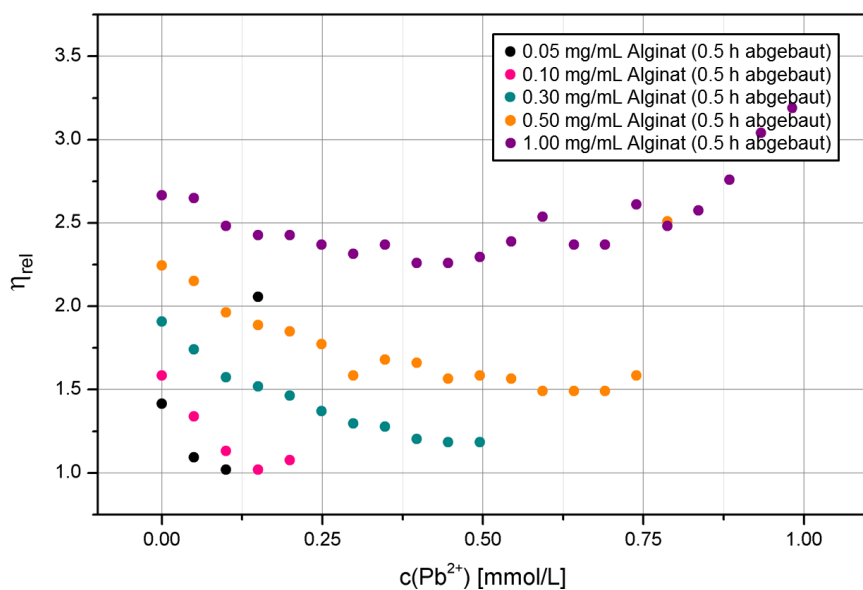


Abbildung A-132: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen 0.5 h abgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von PbAc_2 .

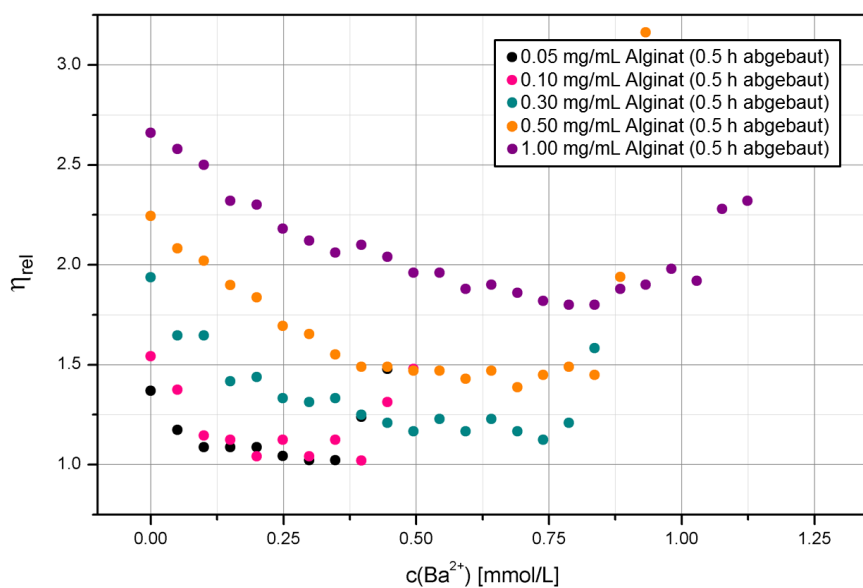


Abbildung A-133: Auftragung der relativen Viskositäten unterschiedlich konzentrierter Lösungen 0.5 h abgebauten Alginats in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe von BaCl_2 .

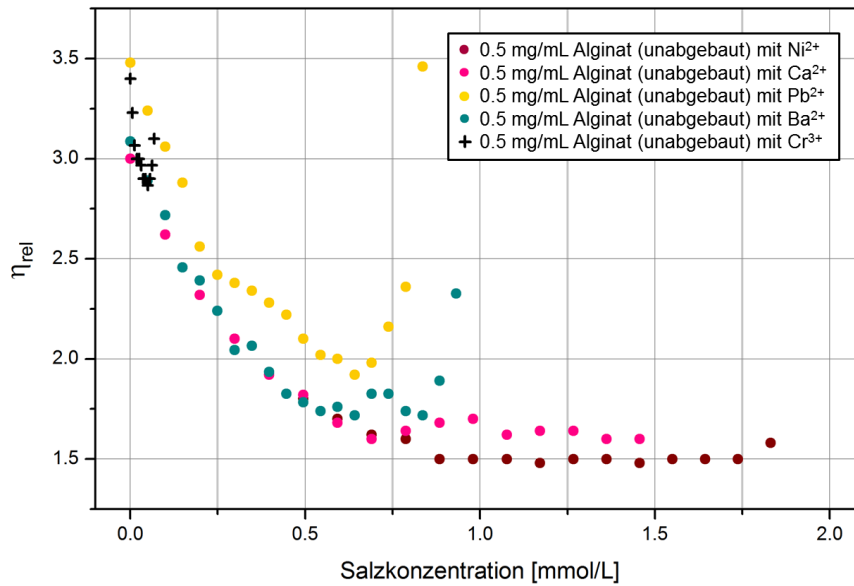


Abbildung A-134: Auftragung der relativen Viskositäten von Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats (0.5 mg/mL) in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe der betrachteten Salze.

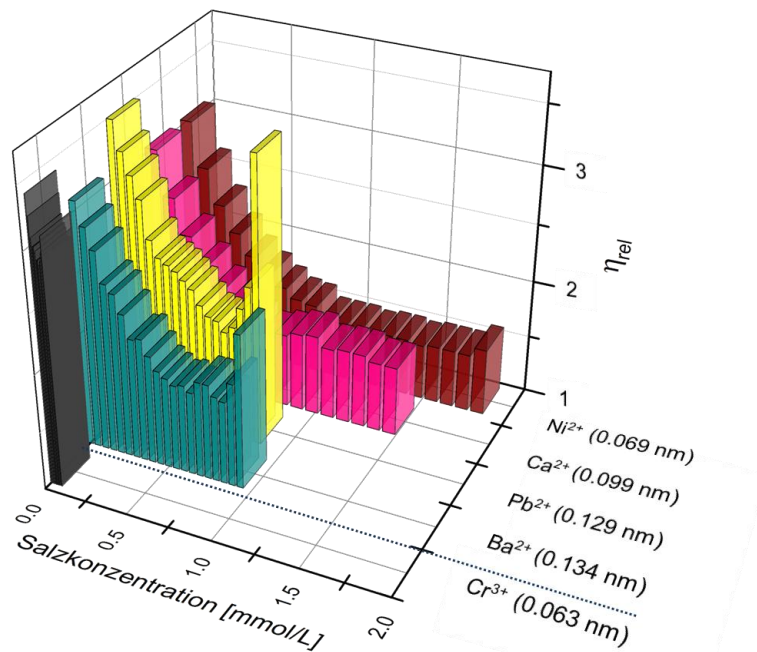


Abbildung A-135: Auftragung der relativen Viskositäten von Lösungen aufgereinigten, unabgebauten Alginats (0.5 mg/mL) in bidestilliertem Wasser unter schrittweiser Zugabe der betrachteten Salze in Abhängigkeit von Ionenradius und -ladung.

Auflistung der verwendeten Abkürzungen

| | |
|-------------------------|--|
| AAS | Atomabsorptionsspektroskopie |
| AFM | Rasterkraftmikroskopie (atomic force microscopy) |
| ALG | Natriumalginat |
| CT | Konduktometrische Titration (conductivity titration) |
| DEX | Dextran |
| DNA | deoxyribonucleic acid (bzw. Desoxyribonukleinsäure, kurz: DNS) |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| EPS | Extrazelluläre polymere Substanzen |
| FID | free induction decay |
| FT | Fourier-Transformation |
| G | α -L-Guluronat |
| GPC | Gelpermeationschromatographie |
| HA | Natriumhyaluronat |
| HE | Hahn-Echo |
| LALS | Kleinwinkellichtstreuung (low angle light scattering) |
| LB | locker gebunden (loosely bound) |
| <i>L. mesenteroides</i> | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> |
| M | β -D-Mannuronat |
| Magn | Vergrößerung (magnification) |
| MALS | Vielwinkellichtstreuung (multi angle light scattering) |
| MIC | mikrobiell beeinflusste Korrosion (microbiologically influenced corrosion) |
| MWD | Molmassenverteilung (molecular weight distribution) |
| NMR | Kernresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance spectroscopy) |
| NOAL | Schwellenkonzentration (no observed adverse effect level) |
| PFG | gepulste Feldgradienten (pulsed field gradient) |
| PNEC | Schwellenkonzentration (predicted no effect concentration) |
| PS | Polysaccharid |
| RALS | Rechtwinkellichtstreuung (right angle light scattering) |
| RF | Radiofrequenz |
| RI | Brechungsindex (refractive index) |
| RV | Rotationsviskosimetrie |
| SEC | Größenausschlusschromatographie (size exclusion chromatography) |
| SPM | Rastersondenmikroskopie (scanning probe microscopy) |
| STE | stimulated echo |
| STM | Rastertunnelmikroskopie (scanning tunneling microscopy) |

| | |
|-----|--|
| TB | fest gebunden (tightly bound) |
| TMS | Tetramethylsilan |
| TRD | tolerierbare täglich resorbierte Körperdosen |
| UV | ultraviolett |
| VE | voll entionisiert |

Auflistung der verwendeten Symbole

| | |
|-------------------------------|---|
| A | Schichtfläche |
| a | Abstand |
| α | Mark-Houwink-Exponent |
| α_{Diss} | Dissoziationskonstante |
| B_0 | statisches Magnetfeld, Magnetfeldstärke |
| B_1 | oszillierendes Magnetfeld, Pulsstärke |
| c | (molare) Konzentration |
| γ | gyromagnetisches Verhältnis |
| D | Schergeschwindigkeit (Geschwindigkeitsgradienten dv_x/dz) |
| Δ | Diffusionszeit |
| d | Polydispersitätsindex |
| δ | Gradientenlänge |
| $(\delta n/\delta c)_\lambda$ | Brechungsindexinkrement |
| ΔU | Spannungsdifferenz |
| dv_x/dz | Geschwindigkeitsgradient dv_x/dz (Schergeschwindigkeit D) |
| E_{pot} | potentielle Energie |
| F | Faradaykonstante (96484.56 C/mol) ^[121] |
| F_R | Reibungskraft |
| G | Leitwert |
| | Magnetfeldgradient, Gradientenstärke |
| G_n | Gradientenfeldstärke am Ort n |
| h | Plancksches Wirkungsquantum ($6.62517 \cdot 10^{-34}$ Js) ^[121] |
| \hbar | reduziertes Plancksches Wirkungsquantum ($1.05443 \cdot 10^{-34}$ Js) ^[121] |
| η | Viskositätskoeffizient, dynamische Viskosität |
| $[\eta]$ | Grenzviskosität, intrinsische Viskosität, Staudinger-Index |
| I | Stromstärke |
| | beobachtbare NMR-Signalintensität |
| I | Drehimpulsquantenzahl, Kernspin |
| i | Inkrementindex für alle vorhandenen molekularen Massen |
| I_0 | Referenzintensität (unabgeschwächte NMR-Signalintensität) |
| K | Mark-Houwink-Koeffizient |
| κ | spezifische Leitfähigkeit |
| k_B | Boltzmann-Konstante ($1.3806 \cdot 10^{-23}$ J/K) ^[134] |
| K_{DRI} | Detektorkonstante des Refraktometers |

| | |
|-------------------|---|
| K_K | Kohlrausch-Konstante |
| K_R | optische Konstante |
| K_S | Säurekonstante |
| k_{SEC} | Verteilungskoeffizient/Grad der Porenzugänglichkeit |
| l | Kapillarlänge |
| Λ_m | molare Leitfähigkeit |
| Λ_m° | molare Grenzleitfähigkeit |
| λ_+ | molare Grenzleitfähigkeit eines Kations |
| λ_- | molare Grenzleitfähigkeit eines Anions |
| M | Molmasse |
| m | Masse |
| | Magnetquantenzahl |
| μ | magnetisches Moment |
| μ_B | Ionenbeweglichkeit |
| M_n | numerisches Mittel/ Zahlenmittel der Molmasse |
| M_o | makroskopische Magnetisierung |
| M_w | Gewichtsmittel der Molmasse |
| M_y | Quermagnetisierung |
| M_z | Zentrifugemittel der Molmasse |
| μ_z | Komponente des magnetischen Moments in Magnetfeldrichtung |
| N | Teilchenanzahl |
| n | Brechungsindex (des Eluaten) |
| n_0 | Brechungsindex des Elutionsmittels |
| v_+ | Zahl der Kationen pro Elektrolytformeleinheit |
| v_- | Zahl der Anionen pro Elektrolytformeleinheit |
| N_α | Anzahl der Kerne im Zustand α |
| N_β | Anzahl der Kerne im Zustand β |
| ν_L | Larmor-Frequenz |
| ν_n | Präzessionsfrequenz am Ort n |
| n_S | transportierte Stoffmenge |
| P | Drehimpuls |
| p | Druck |
| P_z | Drehimpulskomponente in Magnetfeldrichtung |
| Q | Elektrizitäts-, Ladungsmenge |
| q | Querschnitt |
| θ | Streulichtwinkel |

| | |
|-----------|---|
| | Auslenkungswinkel |
| R | elektrischer Widerstand |
| | Streulichtintensität |
| r_R | Kapillarradius |
| ρ | spezifischer Widerstand |
| T | Temperatur |
| t | Zeit |
| τ | Schubspannung |
| T_1 | maximal mögliche Diffusionszeit auf Grund der longitudinalen Relaxation |
| T_2 | maximal mögliche Diffusionszeit auf Grund der transversalen Relaxation |
| T_{abs} | absolute Temperatur |
| τ_P | Pulslänge |
| v | Wanderungsgeschwindigkeit |
| V | Volumen |
| V_e | Elutionsvolumen |
| V_i | Porenvolumen (inner volume) |
| V_o | Zwischenkornvolumen (outer volume) |
| z | Ionenwertigkeit |

Lebenslauf

Der vollständige Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Persönliche Informationen

Name: Anna-Maria Zellermann

Publikationen

A. Zellermann, *Untersuchung der mechanischen Eigenschaften PFD-gefüllter Kapseln*, 2. Arbeitstreffen „Künstliche Sauerstoffträger“ **2009**, Marienthal, Germany. Oral presentation.

A. Zellermann, *Investigation of nano- and microcapsules by atomic force microscopy*, Nanofair **2009**, Dresden, Germany. Oral presentation.

A. Zellermann, C. Mayer, *Investigation of nano- and microcapsules by atomic force microscopy*, 44th Meeting of the German Colloid Society **2009**, Hamburg, Germany. Poster presentation.

A. Zellermann, C. Mayer, *AFM-Messungen an künstlichen Sauerstoffträgern*, 15. Workshop „Mechanismen der Zell- und Gewebeschädigung“ **2009**, Xanten, Germany. Oral presentation.

C. B. dos Santos, S. Beuermann, A. Zellermann, M. Metzner, C. Mayer, *Surface functionalization and autonomic repairing: Bio-inspired materials*, Galvanotechnik 100(12), 2712, **2009**.

J. Bauer, M. Zähres, A. Zellermann, M. Kirsch, F. Petrat, H. de Groot, C. Mayer, *Perfluorcarbon-filled poly(lactide-co-glycolide) nano- and microcapsules as artificial oxygen carriers for blood substitutes: a physico-chemical assessment*, J. Microencapsulation 27, 122, **2010**.

A. Zellermann, *Investigation of polysaccharides and their interactions with multivalent metal ions*, ISPAC **2011**, Torino, Italy. Oral presentation.

A. Zellermann, D. Bergmann, C. Mayer, *Cation induced conformation changes in hyaluronate solution*, European Polymer Journal, 49(1), 70, **2013**.